

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal**

**Maria Luiza de Azevedo**

**MICROPROPAGAÇÃO E ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE MOGNO**

**AFRICANO (*Khaya ivorensis* A. Chev)**

**Diamantina  
2018**

**Maria Luiza de Azevedo**

**MICROPROPAGAÇÃO E ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE MOGNO  
AFRICANO (*Khaya ivorensis* A. Chev)**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Miranda Titon

**Diamantina**

**2018**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A994m      Azevedo, Maria Luiza de  
Micropropagação e enraizamento de miniestacas de mogno africano  
(*Khaya Ivorensis* A. Chev) / Maria Luiza de Azevedo, 2018.  
111 p. : il.

Orientador: Miranda Titon

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência  
Floresta ) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e  
Mucuri, Diamantina, 2018.

1. Propagação vegetativa. 2. Regulador de crescimento. 3. Cultura de  
tecidos. I. Titon, Miranda. II. Título. III. Universidade Federal dos  
Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

**CDD 634.9**

MARIA LUIZA DE AZEVEDO

**Micropropagação e enraizamento de miniestacas de mogno africano  
(*Khaya ivorensis* A. Chev)**

Dissertação apresentada ao  
MESTRADO EM CIÊNCIA  
FLORESTAL, nível de MESTRADO  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de MAGISTER  
SCIENTIAE EM CIÊNCIA  
FLORESTAL

Orientador (a): Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Miranda  
Titon

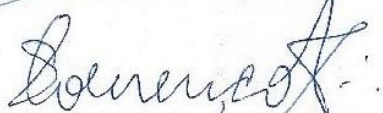
Data da aprovação : 21/09/2018



Prof.Dr.<sup>a</sup> MIRANDA TITON - UFVJM



Prof.Dr. EVANDRO LUIZ MENDONÇA MACHADO - UFVJM



Prof.Dr. SEBASTIÃO LOURENÇO DE ASSIS JÚNIOR - UFVJM



Prof.Dr.<sup>a</sup> ELIANE CRISTINA SAMPAIO DE FREITAS - UFVJM

DIAMANTINA

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por sempre me iluminar e mostrar qual caminho seguir.

Aos meus pais, José Luiz e Neuzimar, por serem meu porto seguro e me incentivarem a ir em busca dos meus sonhos, sem eles não seria possível a realização dessa conquista.

Às minhas irmãs, Bianca e Letícia pela amizade e carinho.

Ao Guilherme, por todo amor e carinho, sempre estando ao meu lado.

À professora Miranda pela confiança, paciência e conhecimentos transmitidos durante esta jornada.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem fazer parte deste trabalho e contribuírem com seus conhecimentos.

Ao Fábio, que me auxiliou sempre na condução dos experimentos no viveiro.

A todos do Laboratório de Melhoramento Florestal pela amizade e apoio prestado.

À Universidade, pela oportunidade de aprendizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

A todos os colegas e amigos que me ajudaram ao longo dessa caminhada.

O meu muito obrigada!

## RESUMO

AZEVEDO, Maria Luiza de. **Micropropagação e enraizamento de miniestacas de mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev).** 2018. 111 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal). Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

A propagação seminal do mogno africano apresenta alguns impasses, como o elevado preço das sementes e a perda de viabilidade em curto espaço de tempo. Diante desses fatos, a propagação vegetativa se torna uma alternativa para produção de mudas da espécie. Este trabalho teve como objetivo desenvolver procedimentos para o estabelecimento da miniestaquia e micropropagação de mogno africano (*Khaya ivorensis*). Para o experimento de miniestaquia, avaliou-se o efeito de concentrações de AIB (0, 500, 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup>) no enraizamento de miniestacas caulinar e foliar de *Khaya ivorensis*. Em miniestacas caulinares, a concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup> de AIB foi a que apresentou a maior taxa de enraizamento (72%). Já as miniestacas foliares não foram consideradas adequadas para a propagação do mogno, uma vez que não houve desenvolvimento da parte aérea. Para a micropropagação foram conduzidos seis experimentos que envolveram germinação, estabelecimento, multiplicação e aclimação. Para a germinação “in vitro”, foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro avaliando tempos de imersão no hipoclorito de sódio (10, 20, 30 e 40 minutos) na desinfestação das sementes, e o segundo avaliando meios de cultura acrescidos de aditivos (carvão ativado + sacarose, carvão ativado sem sacarose, PVP + sacarose, PVP sem sacarose) na germinação “in vitro”. O tratamento mais adequado de assepsia das sementes foi a desinfestação em hipoclorito de sódio 2,5% por 20 minutos, e o meio de cultura contendo carvão ativado e sacarose foi o mais indicado para a germinação “in vitro”. No experimento de estabelecimento, foram utilizados ápices caulinares de mudas de mogno africano mantidas em viveiro, testando-se concentrações de hipoclorito de sódio (1,25 e 2,5%) e antioxidantes (carvão ativado e PVP), sendo o tratamento composto por hipoclorito de sódio 2,5% acrescido de carvão ativado, o que apresentou os melhores resultados. Para a multiplicação foram usados explantes retirados de plantas germinadas “in vitro”, introduzidas em meio de cultura MS, suplementados com concentrações de BAP e ANA. Os tratamentos apresentaram baixa taxa de multiplicação. Para o experimento de pré-aclimação, as plantas multiplicadas foram transferidas para copos de polietileno contendo 10 g de vermiculita, cobertos com plástico transparente por 10 dias, posteriormente, aplicou-se os tratamentos

de retirada ou manutenção da cobertura intacta do plástico. A maior porcentagem de sobrevivência (83%) ocorreu quando se manteve a cobertura plástica intacta no entorno da planta. Na aclimação, as plantas sobreviventes da pré-aclimação foram transplantadas para tubetes contendo substrato vermiculita, adicionado de 8 g L<sup>-1</sup> de Osmocote® (19-06-10) e conduzidas em casa de vegetação, sendo mantido o histórico dos tratamentos da pré-aclimação. Observou-se maior sobrevivência (41%) nas plantas que foram submetidas à pré-aclimação com a cobertura do plástico.

**Palavras-chave:** Propagação vegetativa, regulador de crescimento, cultura de tecidos.

## ABSTRACT

The seminal propagation of African mahogany presents some impasses such as high seed price and the loss of viability in a short time. Faced with these facts the vegetative propagation becomes a great alternative for the production of seedlings of the species. The objective of this work was to develop procedures for the establishment of miniaquity and micropropagation of *Khaya ivorensis*. For the minicutting experiment, the effect of AIB concentrations (0, 500, 1000 and 2000 mg L<sup>-1</sup>) was evaluated on the rooting of leaf and stem minicuttings. In minicuttings, the concentration of 2000 mg L<sup>-1</sup> of AIB was the one with the highest rooting rate (72%). Leaf minicuttings were not considered adequate for the propagation of mahogany, since they did not develop aerial part. For the micropropagation, six experiments were carried out involving germination, establishment, multiplication and acclimatization. For the in vitro germination, two experiments were carried out, the first one evaluating immersion times in sodium hypochlorite (10, 20, 30 and 40 minutes) in the disinfestation of the seeds, and the second evaluating culture media plus additives (activated carbon + sucrose, activated carbon without sucrose, PVP + sucrose, PVP without sucrose) on in vitro germination. The most suitable seed asepsis treatment was 2,5% sodium hypochlorite for 20 minutes, and the culture medium containing activated carbon and sucrose was the most suitable for germination. In the establishment experiment, saplings of African mahogany seedlings were used, and concentrations of sodium hypochlorite (1,25 and 2,5%) and antioxidants (activated charcoal and PVP) were tested, and the treatment was composed of sodium hypochlorite 2,5% plus activated carbon, which presented the best results. For the multiplication, explants extracted from "in vitro" germinated plants, inoculated in MS culture medium, supplemented with BAP and ANA concentrations were used, the treatments presented a low multiplication rate. For the pre-acclimatization experiment, the plants were transferred to polyethylene cups containing 10 g of vermiculite substrate, covered with clear plastic for 10 days, after which the treatments of removal or maintenance of the intact cover of the plastic were applied. The highest percentage of survival (83%) occurred when the plastic cover was kept intact around the plant. In the acclimatization, the surviving pre-acclimation plants were transplanted into tubes containing vermiculite substrate, added with 8 g L<sup>-1</sup> of Osmocote® (06-19-10) and conducted in a greenhouse, maintaining the history of pre-acclimatization treatments -acclimatization. It was observed a greater survival (41%) in the plants that were submitted to pre-acclimatization with the plastic cover.

**Key words:** Plant propagation, growth regulator, tissue culture.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO 01- REFERENCIAL TEÓRICO

<b>Figura 01-</b> Danos causados por <i>Hypsipyla grandella</i> . As imagens mostram uma larva dentro de uma brotação terminal (A) e o dano causado (B).....	21
<b>Figura 2-</b> Aspectos de <i>Khaya ivorensis</i> : abertura do fruto (A), semente (B), povoamento da espécie (C), corte transversal do tronco (D), e detalhe da cor avermelhada nas folhas jovens (E).....	23
<b>Figura 3-</b> Áreas de ocorrência natural de <i>Khaya ivorensis</i> no continente africano.....	24

### CAPÍTULO 02- PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR MINIESTAQUIA DE MOGNO AFRICANO (*Khaya ivorensis* A. Chev)

<b>Figura 01-</b> Temperatura máxima, média, mínima e umidade relativa do ar. Os dados de dezembro a março são referentes à estação meteorológica localizada dentro da casa de vegetação, e os dados de abril da estação meteorológica da casa de sombra do CIPEF/UFVJM.....	43
<b>Figura 02-</b> Formação das minicepas de mogno africano. A) Mudas acondicionadas em bandejas contendo água. B) Muda podada para a emissão das brotações.....	43
<b>Figura 03-</b> Preparo da miniestaca caulinar de mogno africano. A) Muda com brotações, destacando a porção utilizada para a obtenção da miniestaca. B) Miniestaca apical utilizada como padrão no presente estudo.....	45
<b>Figura 04-</b> Preparo da miniestaca foliar de mogno africano. A) Porção da muda utilizada para a obtenção da miniestaca foliar. B) Miniestaca foliar utilizado como padrão no presente estudo.....	46
<b>Figura 05-</b> Sobrevivência das miniestacas caulinares de <i>Khaya ivorensis</i> aos 90 dias, em diferentes concentrações de AIB. As barras indicam o desvio-padrão.....	49
<b>Figura 06-</b> Coeficiente de correlação de Spearman positivo correspondendo a uma relação crescente entre diferentes concentrações de AIB e porcentagem de enraizamento de miniestacas caulinares de <i>Khaya ivorensis</i> na saída da casa de vegetação.....	50
<b>Figura 7-</b> Número médio de raízes e comprimento da maior raiz das miniestacas caulinares de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 90 dias, em diferentes concentrações de AIB.....	51

<b>Figura 08-</b> Área foliar das miniestacas caulinares de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 90 dias, em diferentes concentrações de AIB.....	52
<b>Figura 09-</b> Matéria seca de parte aérea e raiz das miniestacas caulinares de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 90 dias, em diferentes concentrações de AIB.....	53
<b>Figura 10-</b> Porcentagem de sobrevivência de <i>Khaya ivorensis</i> em função das diferentes concentrações de AIB aos 120 dias.....	54
<b>Figura 11-</b> Porcentagem de enraizamento de <i>Khaya ivorensis</i> em função das diferentes concentrações de AIB aos 120 dias.....	54
<b>Figura 12-</b> Desenvolvimento de mudas de <i>Khaya ivorensis</i> . A) Desenvolvimento de um sistema radicular apresentando raízes primárias e secundárias. B) Muda com crescimento ortotrópico (vertical).....	55
<b>Figura 13-</b> Número de raízes e altura das miniestacas caulinares de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 120 dias, em diferentes concentrações de AIB.....	56
<b>Figura 14-</b> Matéria seca da parte aérea e da raiz das miniestacas caulinares de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 120 dias, em diferentes concentrações de AIB.....	57
<b>Figura 15-</b> Diâmetro do colo das miniestacas caulinares de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 120 dias, em diferentes concentrações de AIB.....	57
<b>Figura 16-</b> Porcentagem de enraizamento e número de raízes das miniestacas foliares de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 90 dias, em diferentes concentrações de AIB.....	58
<b>Figura 17-</b> Miniestacas foliares de <i>Khaya ivorensis</i> enraizadas, porém sem o desenvolvimento da parte aérea.....	59
<b>Figura 18-</b> Miniestacas de <i>Khaya ivorensis</i> infestadas por cochonilhas.....	60

### **CAPÍTULO 03- MICROPROPAGAÇÃO DE MOGNO AFRICANO (*Khaya ivorensis* A. Chev)**

<b>Figura 01-</b> Procedimentos de micropropagação para o mogno africano ( <i>Khaya ivorensis</i> )....	71
<b>Figura 02-</b> Esquema do processo de desinfestação de ápices caulinares (explantos) de <i>Khaya ivorensis</i> .....	73
<b>Figura 03-</b> Esquema do processo de desinfestação de sementes de <i>Khaya ivorensis</i> .....	74
<b>Figura 04-</b> Sementes de mogno africano ( <i>Khaya ivorensis</i> ). A) Sementes sem tegumento e com a concavidade voltada para baixo. B) Semente introduzida no meio de cultura.....	74
<b>Figura 05-</b> Diferentes meios de cultura. A) Introdução das sementes em tubos de ensaio. B) Meio de cultura contendo PVP. C) Meio de cultura contendo carvão ativado.....	77

<b>Figura 06-</b> Explante de mogno africano ( <i>Khaya ivorensis</i> ) utilizado na multiplicação “in vitro”.....	78
<b>Figura 07-</b> Pré aclimação de mogno africano ( <i>Khaya ivorensis</i> ) em copos plásticos, cobertos com sacos de polietileno transparente.....	79
<b>Figura 08-</b> Aspecto visual de <i>Khaya ivorensis</i> . A) Vigorosa, B) Perda de turgescência, C) Morta.....	80
<b>Figura 09-</b> Aspecto dos explantes de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 30 dias: (A) explante contaminado por bactérias; (B) explante contaminado por fungo; (C) meio de cultura oxidado; (D) explante responsivo; (E) explante sem resposta.....	81
<b>Figura 10-</b> Porcentagem de contaminação de ápices caulinares de <i>Khaya ivorensis</i> em função dos tratamentos testados aos 30 dias após introdução. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. As barras indicam o desvio padrão.....	82
<b>Figura 11-</b> Explantes de <i>Khaya ivorensis</i> contaminados por fungos apresentando brotações viáveis.....	83
<b>Figura 12-</b> Porcentagem de oxidação de ápices caulinares de <i>Khaya ivorensis</i> em função dos tratamentos testados aos 30 dias após introdução. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.....	83
<b>Figura 13-</b> Porcentagem de explantes responsivos de <i>Khaya ivorensis</i> em função dos tratamentos testados aos 30 dias após introdução.....	84
<b>Figura 14-</b> Porcentagem de contaminação em sementes de <i>Khaya ivorensis</i> , em diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio a 2,5%.....	86
<b>Figura 15-</b> Curva da porcentagem de germinação de sementes de <i>Khaya ivorensis</i> em função dos diferentes tempos de imersão no hipoclorito de sódio durante 56 dias.....	87
<b>Figura 16-</b> Porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de <i>Khaya ivorensis</i> em diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio, aos 56 dias. As barras indicam o desvio padrão.....	87
<b>Figura 17-</b> Porcentagem de emergência de sementes de <i>Khaya ivorensis</i> em diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio. As barras indicam o desvio padrão.....	88
<b>Figura 18-</b> Germinação de sementes de <i>Khaya ivorensis</i> . A) Germinação normal das sementes com formação de plântula. B) Germinação com formação de muitas raízes sem o desenvolvimento da parte aérea.....	88
<b>Figura 19-</b> Curva da porcentagem de germinação de sementes de <i>Khaya ivorensis</i> em função dos diferentes meios de cultura durante 49 dias.....	90

<b>Figura 20-</b> Porcentagem de sementes germinadas e IVG de <i>Khaya ivorensis</i> em diferentes meios de cultura. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. As barras indicam o desvio padrão.....	90
<b>Figura 21-</b> Porcentagem de emergência das sementes germinadas de <i>Khaya ivorensis</i> em diferentes meio de cultura, aos 49 dias. As barras indicam o desvio padrão.....	92
<b>Figura 22-</b> Porcentagem de contaminação de sementes de <i>Khaya ivorensis</i> em diferentes meios de cultura. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. As barras indicam o desvio padrão.....	93
<b>Figura 23-</b> Porcentagem de enraizamento e número médio de brotos, altura, e folhas formados no explante na fase de multiplicação “in vitro” aos 50 dias.....	95
<b>Figura 24-</b> Presença de calos na superfície abaxial das folhas de <i>Khaya ivorensis</i> .....	96
<b>Figura 25-</b> Aspecto dos brotos de <i>Khaya ivorensis</i> , durante a fase de multiplicação.....	98
<b>Figura 26-</b> Folhas amareladas aos 50 dias na multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Khaya ivorensis</i> .....	98
<b>Figura 27-</b> Aspecto visual de mudas de <i>Khaya ivorensis</i> , na fase de pré-aclimatação, aos 7, 14 e 21 dias, em função dos tratamentos: permanência do plástico transparente intacto (vedado), e retirada total do plástico (aberto).....	99
<b>Figura 28-</b> Sobrevivência de <i>Khaya ivorensis</i> , na fase de aclimatação na casa de vegetação ao longo das avaliações, em função dos tratamentos: permanência da cobertura plástica (vedado) e retirada total do plástico (aberto).....	101
<b>Figura 29-</b> Aclimatação de mudas de <i>Khaya ivorensis</i> em casa de vegetação aos 21 dias.....	102

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 02- PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR MINIESTAQUIA DE MOGNO AFRICANO (*Khaya ivorensis* A. Chev)

<b>Tabela 1-</b> Composição da solução nutritiva aplicada nas mudas de mogno africano.....	44
<b>Tabela 2-</b> Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência de miniestacas de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 90 dias.....	48
<b>Tabela 3-</b> Resumo da análise de variância para número médio de raízes (NMR) e comprimento médio da maior raiz (CMR) de miniestacas de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 90 dias.....	51
<b>Tabela 4-</b> Resumo da análise de variância para área foliar (AF), matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca de raiz (MSR) de miniestacas de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 90 dias.....	52
<b>Tabela 5-</b> Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência (SOB) e porcentagem de enraizamento (ENR) de miniestacas de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 120 dias.....	53
<b>Tabela 6-</b> Resumo da análise de variância para número médio de raiz (NMR), altura (h), diâmetro (d), matéria seca da parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) de miniestacas de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 120 dias.....	56
<b>Tabela 7-</b> Resumo da análise de variância para porcentagem de enraizamento e número de raízes de miniestacas foliares de <i>Khaya ivorensis</i> , aos 90 dias.....	58

### CAPÍTULO 03- MICROPROPAGAÇÃO DE MOGNO AFRICANO (*Khaya Ivorensis* A. Chev)

<b>Tabela 1-</b> Tratamentos utilizados para avaliar o estabelecimento de ápices caulinares de mogno africano ( <i>Khaya ivorensis</i> ).....	74
<b>Tabela 2-</b> Resumo da análise de variância para porcentagem de contaminação (CON), porcentagem de oxidação (OXI), porcentagem de explantes responsivos (ER), aos 30 dias.....	81
<b>Tabela 3-</b> Resumo da análise de variância para porcentagem de contaminação (CON), porcentagem de germinação (G), porcentagem de emissão de parte aérea (PA), e índice de	

velocidade de germinação (IVG), aos 56 dias, para a semente de mogno africano.....85

**Tabela 4-** Resumo da análise de variância para porcentagem de contaminação (CON), porcentagem de germinação (G), porcentagem de emissão de parte aérea (PA), e índice de velocidade de germinação (IVG), aos 49 dias, para a semente de mogno africano.....89

**Tabela 5-** Resumo da análise de variância para número médio de brotos viáveis (BROT), altura média (h), porcentagem de enraizamento (ENR), e número médio de folhas (FOL) aos 50 dias após a introdução.....94

**Tabela 6-** Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência de mudas de *Khaya ivorensis*, na pré-aclimação, aos 21 dias.....99

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABA	Ácido Abscísico
AF	Área Foliar
AIA	Ácido Indolacético
AIB	Ácido Indolbutírico
ANA	Ácido Naftaleno Acético
BAP	Benzilaminopurina
BROT	Número Médio de Brotos Viáveis
CIPEF	Centro Integrado de Propagação de Espécies Florestais
CMR	Comprimento Médio da Maior Raiz
CON	Contaminação
CV	Coeficiente de Variação
DAP	Diâmetro à Altura do Peito
D	Diâmetro
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
ENR	Porcentagem de Enraizamento
ER	Explante Responsivo
FOL	Número Médio de Folhas
FV	Fonte de Variação
GA <sub>3</sub>	Ácido Giberélico
GL	Grau de Liberdade
H	Altura
IBAMA	Instituto Brasileiro Do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IPEAN	Instituto De Pesquisa Agropecuária Do Norte
IVG	Índice de Velocidade de Germinação
MSPA	Matéria Seca da Parte Aérea
MSR	Matéria Seca de Raiz
QM	Quadrado Médio
NMR	Número Médio de Raízes
OXI	Oxidação
PA	Parte Aérea
PVP	Polivinilpirrolidone
UFVJM	Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 01- REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>17</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>17</b>
<b>2 OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>19</b>
2.1 Objetivos Específicos .....	19
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>20</b>
3.1 Proibição da comercialização do mogno nativo .....	20
3.2 Resistência do mogno africano a principal praga no mogno nativo .....	20
3.3 Plantios de mogno africano no Brasil .....	22
3.4 A espécie <i>Khaya ivorensis</i> .....	22
3.4.1 Área de Ocorrência .....	24
3.4.2 Características Botânicas .....	25
3.4.3 Utilizações da Madeira .....	25
3.4.4 Sementes de <i>Khaya ivorensis</i> .....	26
3.5 Propagação Vegetativa .....	26
3.5.1 Miniestaquia .....	27
3.5.2 Micropropagação .....	29
3.5.3 Propagação Vegetativa de Mogno Africano .....	31
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO 02- PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR MINIESTAQUIA DE MOGNO AFRICANO (<i>Khaya ivorensis</i> A. Chev).....</b>	<b>38</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>38</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>39</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>42</b>
2.1 Caracterização do local dos Experimentos .....	42
2.2 Formação das Minicepas .....	43
2.3 Coleta e Preparo das Miniestacas .....	44
2.4 Condução dos Experimentos .....	45
2.4.1 Enraizamento de miniestacas caulinares em diferentes concentrações de AIB .....	45
2.4.2 Enraizamento de miniestacas foliares em diferentes concentrações de AIB.....	46
2.5 Condução dos Experimentos e Análise Estatística .....	46



<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>48</b>
3.1 Enraizamento de miniestacas caulinares em diferentes concentrações de AIB .....	48
3.1.1 Sobrevivência na saída da casa de vegetação .....	48
3.1.2 Porcentagem de enraizamento na saída da casa de vegetação .....	49
3.1.3 Número e comprimento de raízes das miniestacas enraizadas na saída da casa de vegetação.....	50
3.1.4 Área foliar, matéria seca da parte aérea e raiz na saída da casa de vegetação .....	51
3.1.5 Sobrevivência e Enraizamento na saída da casa de sombra.....	53
3.1.6 Número médio de raiz por miniestaca enraizada, altura, diâmetro e matéria seca de parte aérea e raiz na saída da casa de sombra .....	55
3.2 Enraizamento de miniestacas foliares em diferentes concentrações de AIB .....	58
<b>4 SUSCEPTIBILIDADE DE <i>Khaya ivorensis</i> AO ATAQUE DE COCHONILHA</b>	<b>60</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>62</b>

<b>CAPÍTULO 03- MICROPROPAGAÇÃO DE MOGNO AFRICANO (<i>Khaya ivorensis</i> A. Chev) .....</b>	<b>66</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>66</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>67</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>68</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>70</b>
2.1 Caracterização dos ambientes de Cultivo.....	70
2.2 Esquema do processo de montagem dos experimentos.....	70
2.3 Estabelecimento “in vitro” de ápices caulinares.....	71
2.4 Germinação “in vitro” de <i>Khaya ivorensis</i> sob tempos de imersão em hipoclorito de sódio.....	74
2.5 Meios de cultura na germinação “in vitro” de sementes de <i>Khaya ivorensis</i> .....	76
2.6 Multiplicação “in vitro” .....	78
2.7 Tipos de vedação na pré-aclimatação de plantas propagadas "in vitro".....	79
2.8 Acclimação “ex vitro” do mogno africano .....	80
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>81</b>
3.1 Estabelecimento “in vitro” de ápices caulinares.....	81

3.2 Germinação “in vitro” de <i>Khaya ivorensis</i> sob tempos de imersão em hipoclorito de sódio.....	85
3.3 Meios de cultura na germinação “in vitro” de sementes de <i>Khaya ivorensis</i> .....	89
3.4 Multiplicação “in vitro” .....	94
3.5 Tipos de vedação na pré-aclimatação de plantas propagadas <i>in vitro</i> .....	98
3.6 Acclimação “ex vitro” do mogno africano .....	100
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>103</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>104</b>
<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>111</b>

## CAPÍTULO 01 - REFERENCIAL TEÓRICO

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

Nas últimas décadas, houve uma intensa exploração de espécies florestais nativas, o que ocasionou uma diminuição significativa de madeiras nobres, principalmente no hemisfério sul, em países de clima tropical e subtropical. No Brasil, mais especificamente na região Amazônica, as taxas de desmatamento aumentaram a partir de 1991, atingindo um ponto de máxima em 2004, sendo decrescente a partir deste ano (INPE, 2016).

O mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) é uma das espécies da Amazônia que por possuir características desejáveis como cor, durabilidade e alto valor no mercado internacional sofreu com essa exploração indiscriminada (CHIMELI, 2009). Devido a este extrativismo predatório, aliado à dificuldade de se cultivar o mogno brasileiro para fins comerciais no país por causa da sua alta suscetibilidade ao ataque e danos provocados pela lagarta *Hypsipyla grandella* Zeller (SILVA et al., 2004), a espécie corria risco de extinção. Como medida de proteção o Brasil proibiu a extração e o comércio da madeira por meio da Instrução Normativa do IBAMA nº. 17, de 19 de outubro de 2001. Mesmo com as restrições legais impostas, vários casos de exploração ilegal da madeira continuaram sendo registrados, devido à demanda contínua do mercado (GREENPEACE BRASIL, 2005).

Uma das alternativas apresentadas para preservar o mogno brasileiro foi sua substituição por outras espécies, que apresentassem características da madeira similares às suas propriedades físicas, mecânicas, trabalhabilidade e outros caracteres gerais (PINHEIRO et al., 2011). Com isto, intensificou a introdução de espécies do gênero *Khaya* (*ivorensis*, *senegalensis* e *anthoteca*), conhecidas como mogno africano, resistentes ao ataque de *H. grandella* (SILVA et al., 2004).

Dentre os mognos africanos, a espécie *Khaya ivorensis* A. Chev ganhou espaço no Brasil pelos bons resultados apresentados em pesquisas da Embrapa, elevado valor comercial, melhor desrama natural, fuste mais retilíneo, resistência à lagarta *H. grandella* e por ter crescimento relativamente rápido (FALESI; BAENA, 1999).

Contudo, alguns fatores dificultam o cultivo do mogno africano no Brasil, como o elevado valor das sementes (até três mil reais o quilo). A produção seminal não atende à demanda do mercado, não se tendo um abastecimento contínuo, o que dificulta a aquisição de mudas. As sementes comercializadas são coletadas de indivíduos sem uma prévia seleção, não se tendo quaisquer garantias quanto à qualidade das mudas produzidas. Além disso, as

sementes perdem a viabilidade rapidamente depois de colhidas (PINHEIRO et al., 2011). Diante destes fatos, e dada a importância da espécie para a produção de madeira de alto valor, é necessário que se desenvolvam estudos com objetivos de se estabelecer uma alternativa para propagação da espécie (FAGUNDES, 2013).

A propagação vegetativa se torna uma ótima alternativa para a propagação do mogno africano, uma vez que com essa técnica consegue-se a clonagem de indivíduos com genótipos desejáveis visando plantios comerciais com melhoria na qualidade dos produtos, resistência a pragas e doenças, adaptações às condições específicas, além de redução do tempo de início da produção (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009).

A propagação vegetativa pode ser alcançada tanto pela macropropagação, quanto pela micropropagação. A propagação clonal por meio da macropropagação envolve técnicas como estaquia e suas variações (minietaquia e microetaquia), enquanto a micropropagação é realizada por meio da técnica da cultura de tecidos (HIGASHI; SILVEIRA; GONÇALVES, 2000a).

A minietaquia é considerada no Brasil uma técnica inovadora que foi expandida na década de 90 (ALFENAS et al., 2004). Essa técnica pode ser considerada uma adequação da estaquia convencional, sendo empregada principalmente pelas empresas do setor florestal para a propagação de *Eucalyptus* spp. (WENDLING et al., 2000). Consiste em promover a brotação secundária a partir de uma minicepa, que dará origem às miniestacas que serão enraizadas (HIGASHI; SILVEIRA; GONÇALVES, 2000b), dispensando o rejuvenescimento “in vitro” (WENDLING et al., 2000). Possui um alto potencial para propagação de espécies florestais, porém ainda pouco se conhece sobre esta técnica aplicada em nível comercial para algumas espécies florestais (PEREIRA, 2014), como é o caso do mogno africano.

Já a micropropagação consiste basicamente no cultivo “in vitro”, sob condições assépticas e controladas, de propágulos vegetativos denominados de explantes, os quais na presença de reguladores de crescimento e meio nutritivo adequado, são induzidos a produzirem novas gemas que serão então multiplicadas nestas mesmas condições, a cada novo ciclo de cultivo (HARTMANN et al., 2011). Esta técnica vem sendo praticada com sucesso em espécies hortícolas, ornamentais, medicinais, e mais recentemente em espécies florestais (pinus e eucalipto). Contudo, no que se diz respeito ao cultivo “in vitro” do mogno, ainda pouco se sabe sobre a metodologia para regeneração de plantas (ROCHA; QUOIRIN, 2004).

## 2 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve por objetivo avaliar a miniestaquia e a micropropagação da espécie mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev), visando o estabelecimento de protocolos para a propagação vegetativa da espécie.

### 2.1 Objetivos Específicos

- i) Avaliar o efeito de concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento de miniestacas de *Khaya ivorensis*.
- ii) Testar diferentes concentrações de hipoclorito de sódio na desinfestação de explantes na introdução “in vitro”.
- iii) Avaliar a germinação e contaminação “in vitro” da espécie em diferentes períodos de imersão e concentração de hipoclorito de sódio.
- iv) Avaliar o efeito de diferentes meios de cultura na germinação “in vitro” de sementes de *Khaya ivorensis*.
- v) Testar diferentes concentrações de reguladores de crescimento na fase de multiplicação “in vitro”.
- vi) Avaliar tipos de vedação na pré-aclimação de plantas propagadas “in vitro”.
- vii) Avaliar a aclimação “ex vitro” do mogno africano.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Proibição da comercialização do mogno nativo

Por meio da Instrução Normativa do IBAMA nº. 17, de 19 de outubro de 2001, foi proibido por tempo indeterminado a extração, o transporte, o processamento e a comercialização do mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla*). Apesar dessas restrições, casos recorrentes de exploração criminosa de madeira continuaram sendo registrados, em grande escala, devido à demanda contínua do mercado (GREENPEACE BRASIL, 2005).

Uma alternativa para diminuir a exploração predatória de madeira nobre nativa, como o mogno brasileiro, é o plantio de espécies florestais, desta forma se tem a oferta de madeira de florestas plantadas, diminuindo a pressão sobre áreas naturais. A utilização de espécies exóticas surge então como uma solução para evitar a fragmentação de florestas nativas e de espécies que estão proibidas para exploração (SILVA, 2013).

No Brasil, a introdução e o cultivo de meliáceas exóticas em substituição principalmente ao mogno nativo foram difundidos e recomendados principalmente devido a semelhança das características físicas da madeira entre as espécies e a resistência ao ataque da *Hypsipyla grandella*, (CASTRO et al., 2008).

#### 3.2 Resistência do mogno africano à principal praga no mogno nativo

O plantio de árvores da família Meliaceae para fins comerciais nos trópicos se torna inviável devido à ação das larvas do gênero *Hypsipyla* Zeller (MAHROOF et al., 2002). A intensidade do ataque varia conforme a região e a essência utilizada. Tem-se conhecimento de duas espécies principais: *Hypsipyla grandella* (Zeller), na região tropical da América Latina e sul da Flórida, e *Hypsipyla robusta* (Moore), no sul e sudeste da Ásia, Austrália e no oeste e leste da África (NAIR, 2007).

No Brasil, assim como nos demais países da América Tropical, as tentativas de se cultivar o mogno nativo para fins comerciais apresentaram resultados negativos, devido à sua alta suscetibilidade ao ataque e danos provocados pelo microlepdóptero *Hypsipyla grandella* (SILVA et al., 2004).

A *Hypsipyla grandella* abre galerias no caule da planta, principalmente no meristema apical, fazendo com que ocorra um aumento na brotação lateral, diminuindo a altura de fuste e, conseqüentemente, o valor da madeira (Figura 01). Em alguns casos, os

danos podem até causar a mortalidade das árvores. Várias estratégias têm sido colocadas em prática como alternativas no controle do lepidóptero como: uso de genótipos resistentes ao inseto; manejo silvicultural, uso de semioquímicos; e o controle biológico, com o uso de fungos, vespas, nematoides e bactérias. O uso de inseticidas convencionais tem sido desaconselhável para o controle da broca por razões como o hábito do inseto (críptico), a natureza dos danos (internos na planta), e o longo período de proteção necessário que perdura quase todo o ciclo de vida da planta, que o torna oneroso, impraticável e danoso para o meio ambiente (LUNZ et al., 2009).

**Figura 01-** Danos causados por *Hypsipyla grandella* em mogno brasileiro. As imagens mostram uma larva dentro de uma brotação terminal (A) e o dano causado (B).



Fonte: MOREIRA (2014)

Como as técnicas de controle químico, biológico ou silvicultural não foram consideradas eficazes no controle dessa praga, uma das alternativas foi a utilização de meliáceas exóticas, como as espécies do gênero *Khaya*, conhecidas como mogno africano. Com isto, intensificou-se a introdução de espécies desse gênero em substituição ao mogno brasileiro, já que vêm se mostrando resistentes ao ataque da *Hypsipyla grandella*, além de produzirem madeira de ótima qualidade (SILVA et al., 2004).

Devido ao Brasil apresentar clima e solos similares ao do continente africano, foi considerado enorme a possibilidade de sucesso para o estabelecimento de plantios comerciais. A partir de então, se iniciaram os grandes plantios das espécies exóticas de mogno (FREITAS, 2015).

### 3.3 Plantios de mogno africano no Brasil

O Estado do Pará foi o pioneiro no cultivo do mogno africano, com a introdução de sementes procedentes da Costa do Marfim, em 1976. Essas sementes foram doadas para o pesquisador Italo Falesi, diretor do então IPEAN- Instituto de Pesquisa Agropecuária do Norte, atual Embrapa Amazônia Oriental. A partir destas sementes originaram-se cinco árvores. Uma das árvores foi cortada para o estudo das características da madeira. Assim, atualmente existem quatro árvores em idade reprodutiva no local (SOARES, 2014). Os plantios de mogno africano existentes no país tiveram origem dessas árvores, e de alguns produtores que conseguiram importar sementes de regiões da África, onde a espécie é nativa (FALESI; BAENA, 1999).

Essa constatação é preocupante, uma vez que é possível se ter uma baixa diversidade genética dos plantios de mogno africano no país, o que pode representar um grande risco para a sustentabilidade desses plantios frente a um cenário de mudanças climáticas e a uma possível introdução de insetos-pragas e patógenos (SOARES, 2014).

Os plantios de mogno africano no Brasil estão distribuídos pelos estados do Espírito Santo, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Bahia e Paraná (CARVALHO, 2011).

O cultivo de mogno africano em Minas Gerais tem se expandido, sendo a cidade de Pirapora (MG), por meio da empresa Atlântica Agropecuária Ltda., a pioneira no plantio irrigado. Outros cultivos da espécie, não irrigados, vêm ganhando espaço nos municípios de Corinto, Curvelo, Várzea da Palma, Piumhi e Carmo do Paranaíba (FREITAS, 2015).

A dificuldade de aquisição de sementes (a produção seminal não atende a demanda exigida pelo mercado), a comercialização de sementes de indivíduos que não foram selecionados, e a inexistência de programas de melhoramento florestal, são fatores que dificultam a expansão dos plantios de mogno africano no Brasil.

### 3.4 A espécie *Khaya ivorensis*

Atualmente existem quatro espécies de mogno africano plantadas no Brasil, *Khaya ivorensis*, *Khaya senegalensis*, *Khaya grandifolia* e *Khaya anthoteca*, sendo a primeira a mais produzida, por apresentar boa adaptação às condições de clima e solo do território brasileiro (CARVALHO, 2014).



*Khaya ivorensis* é uma árvore de clima tropical da mesma família do mogno brasileiro, e tem origem na costa ocidental da África (FAGUNDES, 2013). As plantas pertencem à família Meliaceae, do grupo ecológico secundárias tardias, são heliófilas, mas toleram sombra no estágio inicial (GUIMARÃES et al., 2004). Pode apresentar sapopemas e cancro (*Lasiodiplodia theobromae*) (SILVA et al., 2016).

A espécie *Khaya ivorensis* possui grande importância, não apenas por possuir alto valor da sua madeira no comércio internacional, mas também por apresentar resistência a algumas pragas que comumente atacam o mogno-brasileiro (FALESI; BAENA, 1999). No oeste e leste da África, no sul e sudeste da Ásia e Austrália as florestas de *Khaya ivorensis* são atacadas primordialmente pela *Hypsipyla robusta*, que é inexistente nas Américas (NAIR, 2007). Assim, é de extrema importância que se tenha barreiras sanitárias eficazes para evitar a entrada deste patógeno no continente Americano.

Uma das características morfológicas que distingue o mogno africano *Khaya ivorensis* das outras espécies de mogno é a cor avermelhada das folhas mais jovens, localizadas na região apical. Essa coloração ocorre por causa da concentração de antocianina nas folhas mais próximas ao meristema apical (FALESI; BAENA, 1999).

*Khaya ivorensis* possui fuste retilíneo ausente de ramificações e boa produtividade, que pode chegar próximo a 307 m<sup>3</sup>/ha aos 15 anos de idade dependendo do manejo (PINHEIRO et al., 2011). Algumas características da espécie são apresentadas na Figura 02.

**Figura 02-** Aspectos de *Khaya ivorensis*: Abertura do fruto (A), semente (B), povoamento da espécie (C), corte transversal do tronco (D) e detalhe da cor avermelhada nas folhas jovens (E).



Fonte: IBT FLORESTAS (2015).

Com o passar do tempo, observando o desempenho da espécie, se iniciaram os trabalhos de pesquisa envolvendo *Khaya ivorensis*. Por isso, a bibliografia nacional ainda é escassa, como também a internacional, uma vez que a espécie na sua região de origem não apresenta grande interesse para os plantios comerciais em grande escala, devido estar muito propícia ao ataque da *Hypsipyla robusta*, que é uma praga de difícil controle nessas regiões (FREITAS, 2015).

### 3.4.1 Área de Ocorrência

A *Khaya ivorensis* possui distribuição natural que se estende nas regiões tropicais úmidas, de baixa altitude, da África ocidental, abrangendo os países Costa do Marfim, Gana, Togo, Benin, Nigéria, o sul do Camarões, a província de Cabinda em Angola e, possivelmente, também na Guiné, Libéria, República Central da África e Congo (LEMMENS, 2008). A espécie ocorre desde 0 a 450 m de altitude, sendo cultivada normalmente em vales úmidos, tolerando inclusive inundações durante o período das chuvas, porém, é bastante sensível ao período de estiagem (GROGAN; BARRETO; VERISSIMO, 2002). A área de ocorrência natural da espécie é mostrada na Figura 03.

A rápida adaptação desta espécie no Brasil é explicada por sua origem em países da costa oeste do continente Africano (ALVES JÚNIOR, et al., 2016), dos quais apresentam algumas características edafoclimáticas como clima, temperatura, pluviosidade e tipos de solos, bastante semelhantes a algumas regiões brasileiras (CASAROLI et al., 2018).

**Figura 03-** Áreas de ocorrência natural de *Khaya ivorensis* no continente africano.



Fonte: LEMMENS (2008).

### 3.4.2 Características Botânicas

É uma árvore que pode atingir até 60 m de altura, podendo apresentar fuste reto de até 30 m, com diâmetro a altura do peito (DAP) de até 210 cm. As folhas são dispostas em espiral, mas agrupadas perto das extremidades dos ramos, são alternas, compostas, paripinadas, margens inteiras, coriáceas, glabras, nervuras pinadas com cinco a dez pares de nervuras laterais (LEMMENS, 2008).

As flores são panículas, unissexuais, apresentando cores esbranquiçadas e suavemente perfumadas. Os frutos são constituídos por cápsulas castanho-acinzentado, deiscentes, suas sementes são pequenas, achatadas e estreitamente aladas em torno da margem e sua raiz é pivotante, com secundárias tabulares (LEMMENS, 2008).

### 3.4.3 Utilizações da Madeira

A madeira do mogno africano é bastante valorizada por possuir coloração avermelhada do cerne (JOKER; GAMÉNÉ, 2003), densidade classificada como média, variando de 0,57 a 0,80 g/cm<sup>3</sup>, alta durabilidade e resistência a ataques de xilófagos. É uma madeira muito utilizada na fabricação de móveis, apresentando bons acabamentos, uma vez que possui a vantagem de facilidade de manuseio e secagem (TEIXEIRA, 2011).

Como os plantios de *Khaya ivorensis* ainda estão em desenvolvimento no país, não existe madeira disponível em larga escala no mercado interno. Desta maneira, o valor da madeira serrada é determinado de acordo com os preços e qualidade das madeiras comercializadas no mercado internacional de origem nativa e em idade mais avançada, e comparativamente aos de outras espécies brasileiras tradicionais (SILVA et al., 2016).

Além do uso madeireiro para fins industriais, a casca da espécie *Khaya ivorensis* é valorizada na medicina tradicional, sendo utilizada no tratamento de tosses, febres, anemia e externamente aplicada em lesões cutâneas, úlceras e tumores. São utilizadas também como analgésicos no tratamento de dores reumáticas e lumbago (PINHEIRO et al., 2011).

A raiz do mogno africano também é utilizada para fins medicinais para o tratamento de disenteria, os brotos novos esmagados servem como analgésicos e sua semente na fabricação de sabão (PINHEIRO et al., 2011). As folhas são usadas no tratamento de pele com feridas, edema, na depressão e dor de cabeça, e como purgante (ALBUQUERQUE et al., 2011).

#### 3.4.4 Sementes de *Khaya ivorensis*

As sementes de *Khaya ivorensis* são vendidas a um preço considerável e nem sempre possuem boas taxas de germinação. O custo das sementes no Brasil varia de R\$1800 à R\$ 3000,00 o quilo, o que dificulta a produção da espécie, principalmente para produtores em menor escala (FAGUNDES, 2013).

As sementes de mogno-africano e brasileiro possuem um grau de umidade médio de 15,46 e 16,63%, respectivamente. Assim, as sementes devem ser semeadas rapidamente após a dispersão dos frutos para evitar perda de viabilidade germinativa (CARVALHO et al., 2016). Possuem capacidade germinativa média de 75 a 80%, podendo chegar a 90% quando recém coletadas. Armazenadas à temperatura ambiente, em dois a três meses tem uma redução da viabilidade, o mesmo ocorre em armazenamento a baixas temperaturas, enquanto na natureza as sementes perdem rapidamente o poder germinativo em cerca de duas semanas. A germinação é lenta, podendo durar até 40 dias (PINHEIRO et al., 2011). Devido perder a viabilidade em curto espaço de tempo, não se tem um abastecimento contínuo das sementes no mercado (PINHEIRO et al., 2011).

Assim, alguns fatores relacionados a sementes de mogno africano inviabilizam seu uso, como por exemplo, a dificuldade de armazenamento, produção irregular, falta de informações fenológicas, e heterogeneidade do material vegetal. Além disso, o uso de sementes para a propagação de espécies tem como resultado indivíduos não uniformes, sujeitos à baixa qualidade e grande variação genotípica, refletindo na produtividade das espécies (DIAS et al., 2012). A propagação por semente ainda pode ser limitada pela dificuldade de execução da coleta devido ao alto porte da árvore (LAMEIRA et al., 2006). Desta forma, devido à dificuldade de aquisição e armazenamento das sementes, uma alternativa para a produção de mudas da espécie é por meio da propagação vegetativa.

### 3.5 Propagação Vegetativa

A propagação vegetativa consiste na produção de mudas por meio de partes ou órgãos vegetativos da planta como ramos, gemas, estacas, folhas, e raízes, obtendo assim indivíduos com as mesmas características genéticas da planta matriz (WENDLING, 2002). Essa técnica é embasada na totipotência, que é a capacidade que uma célula diferenciada tem de se desdiferenciar e retornar ao estado meristemático, dando origem a qualquer órgão vegetal (HARTMANN et al., 2011).

O enraizamento adventício é uma das etapas de maior importância na propagação vegetativa, sendo o fator limitante na utilização da técnica. Alguns fatores podem afetar o enraizamento como o genótipo, idade, nutrição da planta fornecedora de propágulos, condições ambientais (luminosidade, temperatura, umidade), estações do ano de coleta das estacas, balanço hormonal e uso de reguladores de crescimento (HARTMANN et al., 2002).

As auxinas normalmente são consideradas as principais substâncias indutoras do enraizamento adventício, principalmente em espécies de difícil enraizamento (WENDLING; XAVIER, 2005). As auxinas podem ser naturais ou sintéticas, dentre as naturais a principal é o ácido indolacético (AIA). Este hormônio vegetal é produzido na parte aérea das plantas, em regiões de crescimento ativo, como meristema apical e folhas jovens, sendo direcionado para diversos órgãos (TAIZ; ZEIGER, 2013). Algumas espécies não apresentam níveis endógenos de auxinas suficientes para promover o enraizamento, sendo necessária a suplementação por meio da aplicação de fitoreguladores (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

Dentre as auxinas sintéticas, a mais utilizada e que apresenta os melhores resultados para a maioria das espécies florestais é o ácido indolbutírico (AIB) (WENDLING; XAVIER, 2005), por se tratar de uma substância fotoestável, de ação localizada e menos sensível à degradação biológica, em comparação com as demais auxinas sintéticas (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

O aumento da quantidade de auxinas aplicadas em estacas induz o enraizamento até um ponto máximo, sendo que a partir desse ponto qualquer acréscimo da concentração pode se tornar inibitório (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013).

Dentre as técnicas de propagação vegetativa de plantas destacam-se a estaquia e a micropropagação (WENDLING; XAVIER; PAIVA, 2003), onde a escolha do método é feita de acordo com o objetivo da propagação, espécie envolvida, época do ano, habilidade do executor, tipo e quantidade de material disponível, condições ambientais e disponibilidade de recursos físicos, financeiros e humanos (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

### **3.5.1 Miniestaquia**

Dentre as técnicas de propagação vegetativa, a estaquia e a miniestaquia são amplamente utilizadas na produção de mudas de *Eucalyptus* (MELO, 2009).

A miniestaquia consiste em utilizar brotações de plantas que foram propagadas pela estaquia convencional, ou então por meio de sementes, formando o minijardim clonal que pode se localizar em tubetes, vasos ou canaletões (SANTOS et al., 2000). A poda do ápice da muda ocorre em intervalos variáveis em função da época do ano, genótipo, e das condições nutricionais. A parte basal de onde coleta-se a brotação constitui a minicepa, a qual fornecerá as brotações (miniestacas) para o enraizamento adventício e a formação das futuras mudas (XAVIER, WENDLING, SILVA; 2013).

Na maioria das vezes, quando as mudas do minijardim são provenientes de sementes, essas têm sido utilizadas com o objetivo principal de pesquisa, na procura de obtenção de protocolo de propagação vegetativa (SOUZA, 2015).

A propagação comercial via miniestaquia depende da capacidade de enraizamento de cada espécie, da qualidade do sistema radicular formado e do desenvolvimento posterior da muda (NEVES et al., 2006).

Os principais tipos de propágulos utilizados na propagação vegetativa são as estacas, estas podem ser caulinar, foliar ou radicular. A propagação por estaca caulinar, geralmente, requer apenas que um novo sistema radicular adventício seja formado, este tipo de estaca é o mais utilizado para propagação de espécies florestais devido ao potencial da regeneração de gemas pré-formadas já existentes. Já nas estacas foliar e radicular existe a necessidade de formação adventícia tanto do sistema radicular como da parte aérea, o que dificulta a sua utilização na área florestal (XAVIER; SANTOS; OLIVEIRA, 2003).

As estacas caulinares são preparadas deixando em geral um a dois pares de folhas (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009). Essas folhas geralmente devem ter o seu tamanho reduzido, visando evitar assim o efeito “guarda-chuva”, que pode reduzir a eficiência da irrigação, o excesso de transpiração e o recurvamento das estacas (ALFENAS et al., 2009). A presença de folhas em uma estaca caulinar tem a função de estimular o enraizamento, uma vez que é essencial para a realização da fotossíntese, fornecendo assim carboidratos, além da produção de hormônios (auxinas) (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009).

Um detalhe que merece destaque é a confecção da estaca sempre mantendo um par de folhas, visando obter um sistema radicular com melhor distribuição, uma vez que estacas com apenas uma folha tendem a ter o enraizamento apenas do lado em que a folha estava presente (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009).

A miniestaquia apresenta uma série de vantagens em comparação com a estaquia convencional, entre elas: eliminação do jardim clonal de campo; maior facilidade no controle

de patógenos, bem como das condições nutricionais e hídricas no minijardim clonal; maior produtividade, uma vez que as operações de manejo do minijardim clonal, coleta e confecção de miniestacas são mais fáceis e rápidas de serem executadas; maior produção de propágulos (miniestacas) por unidade de área e em menor unidade de tempo; a necessidade de menores concentrações de reguladores vegetais e, em alguns casos, até a sua exclusão completa; a coleta de miniestacas pode ser realizada em qualquer horário do dia; possibilidade na redução do tempo de formação da muda no viveiro, devido ao menor tempo de permanência para enraizamento (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013).

### **3.5.2 Micropropagação**

A micropropagação de plantas é uma alternativa para a propagação comercial de espécies que apresentam interesse econômico. Esta técnica apresenta como desvantagem o elevado custo, porém a demanda de mudas de qualidade para a silvicultura (formação de povoamentos e a recuperação de áreas degradadas) e para a indústria farmacêutica (síntese de metabólitos secundários potencializados por meio do melhoramento genético) justificam a sua utilização (LIMA et al., 2007).

A micropropagação é recomendada quando outras técnicas de propagação vegetativa não apresentam resultados satisfatórios para determinadas espécies; a árvore selecionada não pode ser rejuvenescida por meio da promoção de brotações basais; e quando se deseja aumentar a taxa de propagação e abreviar o tempo para seu uso comercial (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009).

A produção de mudas via micropropagação é realizada em cultivo asséptico e condições controladas de nutrientes, luminosidade, fotoperíodo e temperatura. A utilização desta técnica é crescente no mercado, almejando suprir à demanda de mudas saudáveis e livres de patógenos, em qualquer época do ano, em tempo e espaço físico reduzido, com alta fidelidade genética, maior produtividade, uniformidade e desempenho no campo (ERIG; SCHUCH, 2005).

Os meios de cultura utilizados na micropropagação são responsáveis por fornecer para as plantas as substâncias essenciais para seu crescimento e desenvolvimento “in vitro”, são suplementados com compostos orgânicos e minerais para atender as necessidades energéticas, metabólica e estrutural das células da planta. Os principais componentes do meio de cultura são: água, sais inorgânicos (macro e micronutrientes), carboidratos, vitaminas,

reguladores de crescimento vegetal e outros componentes, como o carvão ativado (CALDAS; HARIDASAN; FERREIRA, 1998).

Os reguladores de crescimento são substâncias de extrema importância no meio de cultura e pode determinar o sucesso do cultivo “in vitro” (REIS et al., 2008). As auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno são reguladores de crescimento que podem ser adicionados ao meio nutritivo. Dentre estes, as auxinas e citocininas são as mais empregadas na cultura de tecidos vegetais para regular a divisão e a diferenciação celular nos explantes (RAI et al., 2011). Esses fitorreguladores são adicionados ao meio de cultura com o objetivo de suprir a insuficiência de hormônios nos explantes isolados (GRIMALDI, 2009).

Existem diversas formulações de meios de cultura que são utilizadas para diferentes espécies. Quando a espécie estudada tem exigências de altas concentrações de sais, principalmente os íons amônio e nitrato, o meio de cultura MS, proposto por MURASHIGE; SKOOG (1962) é geralmente utilizado. Já o meio de cultura WPM “woody plant medium” (LLOYD; McCOWN, 1980) é utilizado especialmente para as espécies lenhosas, por possuir menor concentração de nitrogênio e potássio e menor força iônica total (AMARAL, 2006).

A escolha do explante apropriado e o nível de diferenciação do tecido também são aspectos importantes que precisam ser levados em consideração para o estabelecimento “in vitro” (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Os explantes utilizados são gemas axilares, ápices caulinares e radiculares, segmentos nodais, e tecidos diferenciados (FACHINELLO; BIANCHI, 2005).

O estabelecimento “in vitro” de espécies florestais tem algumas limitações, devido a suas características peculiares, podendo apresentar oxidação dos explantes e contaminação endógena e exógena (SATO et al., 2001).

Como os explantes são obtidos de plantas que estavam em contato com o ar e solo, a contaminação microbiana se torna uma das grandes dificuldades do processo (DANTAS; OLIVEIRA; CÂMARA, 2002). Devido à resistência dos microrganismos aos procedimentos de desinfestação, a fase de introdução e estabelecimento possui geralmente baixa taxa de sobrevivência dos explantes (CAMPOS et al., 2007). Uma alternativa para diminuir os altos índices de contaminação nessa fase é a utilização de material vegetal oriundos de sementes germinadas em condições assépticas (XAVIER; OTONI; PENCHEL, 2007).

Para a desinfestação “in vitro” são utilizados vários procedimentos e produtos, sendo os mais utilizados o etanol (70%) devido seu alto potencial germicida e o hipoclorito de



sódio em diversas concentrações (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009). É necessário que se tenha protocolos eficientes para o uso dos produtos químicos durante a desinfestação. Assim, é possível determinar o melhor tempo e concentração para o maior controle das contaminações, com menores danos aos explantes, garantindo desta maneira, o sucesso no estabelecimento “in vitro” (SALLES et al., 2017).

### 3.5.3 Propagação Vegetativa de Mogno Africano

Para a produção em larga escala de mudas de mogno africano, a utilização de técnicas de propagação vegetativa é vista como importante alternativa para a obtenção mudas de qualidade e em um curto espaço de tempo. Porém, essas técnicas têm sido um desafio para os pesquisadores florestais, uma vez que são poucos os estudos referentes à propagação vegetativa das espécies, principalmente para o gênero *Khaya*.

Foram poucos estudos desenvolvidos referentes à miniestaquia e estaquia do mogno africano, se destacando Barbosa Filho (2015) com *Khaya anthotheca*, Vasconcelos (2012) com *Khaya senegalensis*, e Fagundes (2013) com *Khaya ivorensis* e *senegalensis*, sendo que neste trabalho não foram alcançados resultados positivos.

Para a micropropagação do mogno africano também são escassos os trabalhos publicados nessa linha de pesquisa, destacando Souza (2013) com multiplicação “in vitro” de *Khaya senegalensis*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, C. P.; FIDELIS, D. M.; EUFRADE JUNIOR, H. DE J.; MORENO, N. B.; SILVA, P. G. A. da. Levantamento bibliográfico sobre o Mogno Africano. **JR. Consultoria Florestal**. FCA. UNESP, 2011. Disponível em: <[http://mognozani.com.br/pdf/mogno\\_africano\\_levantamento.pdf](http://mognozani.com.br/pdf/mogno_africano_levantamento.pdf)>. Acesso em 24 de fev. de 2018).
- ALFENAS, A. C., ZAUZA, E. A. V., MAFIA, R. G., ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, Editora: UFV, 2004. 442 p.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 500p.
- ALVES JÚNIOR, J.; BARBOSA, L. H. A.; CASAROLI, D.; EVANGELISTA, A. W. P.; COSTA, F. R. Crescimento de mogno africano submetido a diferentes níveis de irrigação por microaspersão. **Irriga**, Botucatu, v. 21, n. 3, p. 466 – 480, 2016.
- AMARAL, V. F. M. **Multiplicação *in vitro* de *Cedrela fissilis* Vell.** 2006. 63 F. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- BARBOSA FILHO, J. **Miniestaquia, enxertia e alporquia de *Khaya anthotheca***. 2015. 86 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2015.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, v. 2, p. 679-736, 1998.
- CAMPOS, R. A. S.; AÑEZ, L. M. M.; DOMBROSKI, J. L. D.; DIGNART, S. L. Micropropagação de *Jatropha elliptica* (Pohl) Müll. Arg. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, p. 30-36, 2007.
- CARVALHO, J. C. C.; SANTOS, E. B.; REIS, A. R. S.; REIS, L. P.; SANTOS, J. X. Efeitos de tratamento pré-germinativos e substratos na germinação e crescimento de plântulas de mogno-brasileiro e africano. **Biota Amazônia**. Macapá, v. 6, n. 3, p. 84-88, 2016.
- CARVALHO, J. E. U. 2014. **Produção de mudas de mogno-africano**. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=IIVR-xi0Ji4>>. Acesso em: 12 de mar. 2018.
- CARVALHO, U. Mogno africano surge como opção de madeira de qualidade juntas. **Revista da Madeira**. Ed. 129, nov 2011. Disponível em: <<http://www.remade.com.br>>. Acesso em: 10 mar. 2018.
- CASAROLI, D.; ROSA, F. O.; JÚNIOR, J. A.; EVANGELISTA, A. W. P.; BRITO, B. V.; PENA, D. S. Aptidão edafoclimática para o mogno africano no Brasil. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 357-368, 2018.

CASTRO, C. R. T.; LOURENÇO JÚNIOR, J. B.; SANTOS, N. F. A.; MONTEIRO, E. M. M.; AVIZ, M. A. B.; GARCIA, A. R. Sistema silvipastoril na Amazônia: ferramenta para elevar o desempenho produtivo de búfalos. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, 2008.

CHIMELI, A. B. **A ilegalidade do mercado e a oferta do mogno brasileiro**. 2009. 47 f. Pós-graduação (Economia Aplicada). Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2009.

DANTAS, S.; OLIVEIRA, S.; CÂMARA, T. Contaminação microbiana no cultivo *in vitro* de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 10, p. 391-407, 2002.

DIAS, P. C.; OLIVEIRA, L. S. de.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.32, n. 72, p. 453-462. 2012.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p. 49-59, 2009.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p.961-965, jul-ago, 2005.

FACHINELLO, C.A, BIANCHI, V.J. Produção de mudas certificadas. In: FACHINELLO, J.C., HOFFMANN, A., NACHTIGAL, J.C. **Propagação de Plantas Frutíferas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 2005. cap.10, p.207-220.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa, 2005. 221 p.

FAGUNDES, P. R. O. **Propagação vegetativa de mogno africano**. 2013. 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2013.

FALESI, I. C.; BAENA, A. R. C. Mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev.) em sistema silvipastoril com leguminosa e revestimento natural do solo. Belém: **Embrapa Amazônia Oriental**, 1999, 52p.

FREITAS, L, G, B, C. **Identificação e estudo das áreas favoráveis para o cultivo da *Khaya ivorensis* A. Chev. (mogno africano) no estado de Minas Gerais, utilizando modelagem ambiental e análise multicritério**. 2015. 125 f. Dissertação (Mestrado em Análise e Modelagem de Sistemas Ambientais) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

GRATTAPLAGLIA, D., MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S., BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, Parte II, p.183-260, 1998.

GRIMALDI, F. **Propagação *in vitro* DE PEREIRA, CULTIVAR PACKHAM'S TRIUMPH (*Pyrus communis*, L.)**. 2009. 74 F. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2009.

GUIMARÃES, K. V.; MARINHO, P. S. B.; SILVA, M. F. G. V.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; MÜLLER, M. W. 2004. Limonoides isolados na família Meliaceae. In: **XXVI Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares**.

GREENPEACE BRASIL (2005). **Tolerância zero: chega de madeira ilegal - Porque a exploração de madeira na Amazônia está fora de controle**. Disponível em: <[www.greenpeace.org/brasil/Global/brasil/report/2007/6/greenpeacebr\\_060525\\_amazonia\\_relatorio\\_tolerancia\\_zero\\_port\\_v.1.p](http://www.greenpeace.org/brasil/Global/brasil/report/2007/6/greenpeacebr_060525_amazonia_relatorio_tolerancia_zero_port_v.1.p)>. Acesso em 17 jan. 2018.

GROGAN, J.; BARRETO, P.; VERISSIMO, A. **Mogno na Amazônia brasileira: ecologia e perspectiva de manejo**. Belem: Imazon, 2002. 64 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7 ed, New Jersey: Prentice-Hall. 2002. 880 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagacion: principles and practices**. 8. Ed. New Jersey: Prentice Hall, 2011. 915p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. A.; GONÇALVES, A. N. Evolução do jardim clonal de eucalipto para a produção de mudas. **IPEF Notícias**, Piracicaba, v. 24, n. 148, p. 4-6, 2000b.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. Piracicaba: **IPEF. Circular Técnica IPEF**, n. 192, 11 p., 2000a.

IBT FLORESTA (2015). **Sementes de mogno africano - *Khaya ivorensis***. Disponível em: <<https://www.ibflorestas.org.br/blog/sementes-de-mogno-africano-khaya-ivorensis/>>. Acesso em: 24 de março de 2018.

INPE. 2016. **Taxas anuais do desmatamento – 1988 até 2016: taxa de desmatamento anual (km<sup>2</sup> /ano)**. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), São José dos Campos, São Paulo. Disponível em: < [http://www.obt.inpe.br/prodes/prodes\\_1988\\_2016n.htm](http://www.obt.inpe.br/prodes/prodes_1988_2016n.htm)>. Acesso em 20 de abril de 2018.

JOKER, D.; GAMÉNÉ, S. *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss. **Danida Forest Seed Centre**, n. 66, 2003.. Disponível em: <<https://sl.ku.dk/rapporter/seed-leaflets/filer/khaya-senegalensis-66-int.pdf>>. Acesso em: 20 fev. 2018.

LAMEIRA, O. A.; LOPES, S. C.; LEÃO, N. V. M.; CORDEIRO, I. M. C. C. C.; REIS, L. R. S. Efeito de substratos na germinação *in vitro* de mogno (*Swietenia macrophylla* King) **Plant Cell Cult. Micropropag.**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 15-19, 2006.

LEMMENS, R. H. M. J. 2008. *Khaya ivorensis* A. Chev. [Internet] Dados do Protabase Louppe, D., Oteng-Amoako, A. A; Brink, M. [Editors]. **PROTA** (Plant Resources of Tropical Africa/ Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands.<<http://database.prota.org/search.htm>>. Acesso em: 09 jun, 2018).

LIMA, C. S. M.; BANDEIRA, J. M.; RUBIN, S.; RIBEIRO, M, V., BENITEZ, L.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Influência de fitorreguladores no crescimento *in vitro* de partes aérea de *Mentha viridis*. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, supl.2, p.669-71, 2007.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropagation of mountains laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. **Combined Proceedins international Plant Propagators Society**, Washington, v. 30, p. 421-427, 1980.

LUNZ, A. M.; THOMAZINI, M. J.; MORAES, M. C. B.; NEVES, E. J. M.; BATISTA, T. F. C.; DEGENHARD, J.; SOUSA, L. A.; OHASHI, O. S. *Hypsipyla grandella* em mogno (*Swietenia macrophylla*): situação atual e perspectivas. **Pesquisa Florestal Brasileira**. n. 59, p. 45-55, 2009.

MAHROOF, R. M.; HAUXWELL, C.; EDIRISINGHE, J. P.; WATT, A. D.; NEWTON, A. C. Effects of artificial shade on attack by the mahogany shoor borer, *Hypsipylla robusta* (Moore). **Agricultural and Forest Entomology**, Midlothian, n.4, p. 283-292, 2002.

MELO, L. A. de. **Armazenamento, aplicação de antioxidantes e otimização do tempo em casa de vegetação no enraizamento de miniestacas de híbridos de *Eucalyptus grandis***. 2009. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

MOREIRA, X.; ABDALA-ROBERTS, L.; PARRA-TABLA, V.; MOONEY, K. A. Positive Effects of Plant Genotypic and Species Diversity on Anti-Herbivore Defenses in a Tropical Tree Species. **PLoS ONE**, vol. 9, Issue 8, 2014.

MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiology plant**, Waterbury, v.15, p. 473-497, 1962.

NAIR, k. S. S. **Tropical Forest Insect Pests: Ecology, Impact and Management**. New York: Cambridge University Press. 2007, 404p.

NEVES, T. dos S.; CARPANEZZI, A. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; MARENCO, R. A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variação sazonal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1699-1705, 2006.

PEREIRA, M. O. **Resgate vegetativo e propagação via estaquia e miniestaquia de *Toona ciliata* M. Roem. var. *australis* (F. Muell.)**. 2014. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

PINHEIRO, A. L.; COUTO, L.; PINHEIRO, D. T.; BRUNETTA, J. M. F. **Ecologia, silvicultura e tecnologia de utilização dos mognos africanos (*Khaya* spp.)**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Agrossilvicultura, 2011. 102 p.

RAI, M.K.; SHEKHAWAT, N. S.; GUPTA, H. A. K.; PHULWARIA, M.; RAM, K.; JAISWAL, U. The role of abscisic acid in plant tissue culture: a review of recent progress. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 106, p. 179-190, 2011.

REIS, E. S.; PINTO, J. E. B. P.; ROSADO, L. D. S.; CORRÊA, R. M. Influência do meio de cultura na germinação de sementes *in vitro* e taxa de multiplicação de *Melissa officinalis* L. **Revista Ceres**, vol. 55, n.3, p.160-167, 2008.

ROCHA, S. QUOIRIN, M. Calogênese e rizogênese em explantes de Mogno (*Swietenia macrophylla* King) cultivados *in vitro*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, n.1, p. 91-101, 2004.

SALLES, E. A. P. B.; ALCANTARA, G. B.; QUOIRIN, M. G. G.; GONÇALVES, A. N.; HIGA, A. R. Desinfestação e introdução *in vitro* de segmentos nodais de *Acacia mearnsii*. **Pesquisa Florestal brasileira**, Colombo, v. 37, n. 92, p. 485-491, out./dez. 2017.

SANTOS, G. A.; XAVIER, A.; WENDLING, I. OLIVEIRA, M.L. Uso da miniestaquia na propagação clonal de *Cedrela fissilis* (Cedro rosa). In: CONGRESSO E EXPOSIÇÃO INTERNACIONAL SOBRE FLORESTAS, VI, Porto Seguro, BA. **Resumos Técnicos...** Rio de Janeiro: Instituto Ambiental Biosfera, p. 203, 2000.

SATO, A. Y.; DIAS, H. C. T. ANDRADE, L. A.; SOUZA, V. C. Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, v.7, n.2, p.117-23, 2001.

SILVA, J. G. M.; VIDAURRE, G. B.; ARANTES, M. D. C.; BATISTA, D. C.; SORANSO, D. R.; BILLO, D. F. Qualidade da madeira de mogno africano para a produção de serrados. **Sci. For., Piracicaba**, v. 44, n. 109, p. 181-190, mar. 2016.

SILVA, L. V. M. S. da. **Propriedades físicas e mecânicas da madeira de mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev.)**. 2013. 27 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Florestal). Instituto Floresta, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2013.

SILVA, S. C.; SILVA, M. F. G. F.; EDSON FILHO, R.; SOUZA, A. Q.; MULLER, M. W. Identificação de fungos isolados de *Khaya ivorensis* (Meliaceae). In: REUNIÃO ANUAL SOBRE EVOLUÇÃO, SISTEMÁTICA E ECOLOGIA MICROMOLECULARES, 26., 2004, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, 2004.

SOARES, S. D. **Diversidade genética em população de melhoramento de mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev.)**. 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

SOUZA, C. C. **Propagação vegetativa de Paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex. Ducke) e Guapuruvu (*Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake) por miniestaquia**. 2015. 88 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.

SOUZA, E. T. S. **Multiplificação *in vitro* de mogno (*Khaya senegalensis*)**. 2013. 118 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TEIXEIRA, V. C. M. **Avaliação da usinagem da madeira de mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev.)**. 2011. 35 f. Monografia (Bacharel em Engenharia Florestal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2011.

VASCONCELOS, R. T. **Enraizamento de estacas de *Khaya senegalensis* A. Juss. em diferentes concentrações de ácido indolbutírico.** 2012. 45 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Estadual Paulista – UNESP, São Paulo, 2012.

WENDLING, I. **Rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus grandis* pela técnica de miniestaquia e micropropagação seriada.** 2002. 91 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal), Universidade Federal de Viçosa-MG, Viçosa. 2002.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 29, n.6, p. 921-930, 2005.

WENDLING, I; XAVIER, A; GOMES, J. M; PIRES, I. E; ANDRADE, H. B. Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus spp.* por miniestaquia. **Revista Árvore**, v. 24, n. 1, p. 181-186, 2000.

WENDLING, I; XAVIER, A.; PAIVA, H. N. Influência da miniestaquia seriada no vigor de minicepas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.27, n.5, 2003, p. 611-618.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A.; OLIVEIRA, M. L. Enraizamento de Miniestaca Caulinar e Foliar na Propagação Vegetativa de Cedro-Rosa (*Cedrela Fissilis* Vell.). **R. Árvore**, Viçosa-MG, v.27, n.3, p.351-356, 2003.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal - Princípios e Técnicas.** Viçosa, MG: Ed. UFV, 2009. 272p.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal - Princípios e Técnicas.** 2 ed. Viçosa: UFV, 2013. 280p.

XAVIER, A.; OTONI, W.C.; PENCHEL, R.M. **Micropropagação e enxertia *in vitro* de espécies florestais.** In: BORÉM, A. (Ed.) Biotecnologia Florestal. Viçosa: Editora UFV, p.55-74, 2007.

## **CAPÍTULO 02 - PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR MINIASTAQUIA DE MOGNO AFRICANO (*Khaya ivorensis* A. Chev)**

### **RESUMO**

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento de miniestacas caulinar e foliar de *Khaya ivorensis*. Foram utilizadas minicepas obtidas a partir de mudas de origem seminal. As miniestacas caulinares e foliares apresentavam comprimento de 4 e 8 cm respectivamente, com área foliar reduzida a 75%. As bases das miniestacas foram imersas em diferentes concentrações de AIB (0, 500, 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup>) por 20 segundos. Os experimentos foram instalados em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos, três repetições e doze miniestacas por repetição. Após o estaqueamento, as miniestacas foram mantidas em casa de vegetação por 90 dias. Na saída da casa de vegetação, para miniestacas foliares foi avaliado a porcentagem de enraizamento e o número de raízes. Já para as miniestacas caulinares, aos 90 dias foram analisadas apenas seis miniestacas por repetição, avaliando porcentagem de sobrevivência e enraizamento, comprimento e número de raízes, matéria seca da parte aérea e raiz, e área foliar. As miniestacas caulinares restantes foram transferidas para casa de sombra, onde permaneceram por mais 30 dias, e posteriormente avaliadas a porcentagem de sobrevivência e enraizamento, a altura, o diâmetro do coleto, e matéria seca da parte aérea e raízes. As miniestacas foliares não foram consideradas adequadas para a propagação do mogno, uma vez que não houve desenvolvimento da parte aérea. Para miniestacas caulinares, a concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup> de AIB foi a que apresentou a maior taxa de enraizamento (72%), sendo recomendada para a propagação vegetativa por miniestaquia da espécie.

**Palavras-chaves:** Enraizamento adventício, reprodução assexuada, ácido indolbutírico.



## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of concentrations of indolebutyric acid (IBA) on rooting of leaf and leaf mines of *Khaya ivorensis*. Minecases obtained from seedlings of seminal origin were used. The minicuts with 5 cm length and leaf area reduced to 75%, had their bases immersed in different concentrations of AIB (0, 500, 1000 and 2000 mg L<sup>-1</sup>) for 20 seconds. The experiments were installed in a completely randomized design with four treatments, three replicates and twelve minicups per replicate. After staking, the minicuttings were kept in a greenhouse for 90 days. At the exit of the greenhouse, for leaf minicuttings the percentage of rooting and the number of roots were evaluated. In the case of minicuttings, at 90 days, six mini - cuts were analyzed per replicate, evaluating the percentage of survival and rooting, length and number of roots, dry matter of shoot and root, and leaf area. The remaining minicuttings were transferred to the shade house, where they remained for a further 30 days, and subsequently evaluated the percentage of survival and rooting, height, collection diameter, and dry matter of shoot and roots. Leaf minicuttings were not considered adequate for the propagation of mahogany, since there was no development of the aerial part. For minicuttings, the concentration of 2000 mg L<sup>-1</sup> of AIB was the one with the highest rooting rate (72%) and recommended for vegetative propagation by minicutting of the species.

**Key-words:** Adventitious rooting, asexual reproduction, indolebutyric acid

## 1 INTRODUÇÃO

Madeiras obtidas de reflorestamento são tendência de mercado, uma vez que são empregadas práticas mais racionais, além de serem legalizadas (SOUZA, 2012). A implementação destes sistemas florestais é uma prática economicamente viável, além de proporcionar benefícios ambientais, pois diminui a pressão sobre as florestas nativas (CASTRO, 2008). Devido a essa demanda por madeira de reflorestamentos para serraria, tem crescido a busca por espécies alternativas de cultivo, que possuam características tecnológicas desejáveis (BRIGHENTI; MULLER, 2014).

Dentre as espécies exóticas introduzidas no país visando à formação de plantios comerciais, o mogno africano (*Khaya ivorens* A. Chev) se destaca por ser madeira nobre com alto valor econômico, além disso, é uma espécie de rápido crescimento, fácil adaptação e alta qualidade para a utilização da madeira sólida (CARVALHO; SILVA; LATORRACA, 2010).

Apesar de tantas características interessantes da espécie alguns fatores dificultam o seu cultivo no país. Dentre eles destaca-se a dificuldade de produção de mudas, uma vez que a produção seminal não atende à demanda do mercado, não tendo um abastecimento contínuo. A difícil execução de coletas das sementes devido ao elevado porte da árvore. A perda de viabilidade em curto espaço de tempo, e o alto valor das sementes (PINHEIRO et al., 2011). Além do mais, o uso de sementes para a reprodução de plantas resulta na maioria das vezes em povoamentos heterogêneos, devido a variação genotípica, refletindo na produtividade das espécies (DIAS et al., 2012). Diante destes fatos, a propagação vegetativa torna-se uma alternativa para a propagação do mogno.

Dentre as técnicas de propagação vegetativa, a estaquia e a miniestaquia são as mais utilizadas no setor florestal para produção de mudas de plantas selecionadas em grande escala (FLORIANO, 2004). Entre as principais vantagens da propagação vegetativa por estacas, podem-se destacar a possibilidade de se propagar grande número de plantas a partir de uma única planta-matriz, em curto espaço de tempo, baixo custo e fácil execução (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

As técnicas de propagação por estaquia e miniestaquia incluem quatro etapas, iniciando com a coleta de brotos, em seguida a preparação das estacas ou miniestacas e do meio de crescimento, depois pelo enraizamento e por fim, a rustificação das mudas. A fase de enraizamento é uma das mais importantes, sendo determinante na produção das mudas (FLORIANO, 2004).

A miniestaquia pode ser entendida como um aprimoramento da estaquia convencional (macroestaquia), consistindo na utilização de brotações de plantas propagadas pelo processo de estaquia ou mudas produzidas por sementes (ALFENAS et al., 2004). Nesta técnica, as plantas fornecedoras das brotações (minicepas) são mantidas em sistemas, como canaletão, tubetes, sacos plásticos ou vasos (CUNHA et al., 2005). O conjunto destas minicepas constitui o minijardim clonal (XAVIER; SANTOS, 2002). Após a poda dos ápices das minicepas, estas emitem brotações (miniastacas) que são coletadas em intervalos regulares e estaqueadas em casa de vegetação, dando origem às novas mudas (WENDLING; DUTRA, 2008). No caso do gênero *Eucalyptus*, as miniastacas são geralmente produzidas nas dimensões que variam de 4 a 8 cm de comprimento, contendo de um a três pares de folhas, sendo variável de acordo com genótipo (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009).

Para a iniciação de raízes adventícias em estacas, são necessários certos níveis de substâncias reguladoras de crescimento. Várias substâncias, quando aplicadas exogenamente, promovem ou inibem a iniciação de raízes adventícias, dependendo da espécie, do estado de maturação da planta matriz, dentre outros fatores (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013). Entre as substâncias com propriedades reguladoras de crescimento vegetal, as auxinas são as mais utilizadas no enraizamento de estacas lenhosas (HARTMANN et al., 2011). Dentre estas, Hartmann et al. (2002) recomendam principalmente o ácido indolbutírico (AIB), por ser considerado fotoestável e menos tóxico para as plantas que as demais auxinas sintéticas utilizadas. Já as substâncias que podem ter efeito inibidor do enraizamento se destacam o ácido abscísico (ABA) e o etileno; embora qualquer regulador de crescimento possa causar inibição de raízes, dependendo da sua concentração (FLORIANO, 2004).

A época do ano também apresenta grande influência no sucesso da miniestaquia de espécies lenhosas. Dependendo da estação do ano, as estacas podem estar em diferentes estágios de crescimento, sendo que no outono e inverno existe a tendência de estarem mais lignificadas, com crescimento vegetativo reduzido, apresentando menor potencial para enraizamento (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005). Já as estacas colhidas na primavera e no verão tendem a ter maior facilidade de enraizamento em função do crescimento vegetativo desta época (HARTMANN et al., 2002).

Outros fatores podem interferir no processo de formação de raízes, a exemplo o estado fisiológico da planta matriz (presença de carboidratos, aminoácidos, proteínas, vitaminas, substâncias hormonais, compostos fenólicos e outras substâncias), a posição na planta matriz em que se coleta o ramo, a presença de folhas e de gemas, a idade da planta

matriz (a formação de raízes adventícias diminui à medida que avança a idade da planta fornecedora de propágulos) e fatores do ambiente, como disponibilidade de água, temperatura, luminosidade e substrato (HARTMANN et al., 2011).

A viabilidade da propagação comercial por estaquia e miniestaquia depende da capacidade de enraizamento de cada espécie, da qualidade do sistema radicular formado e do desenvolvimento posterior da planta (NEVES et al., 2006). As variáveis relacionadas à qualidade do sistema radicular, como número e comprimento de raízes formadas, são fatores importantes na produção das mudas. Mudas com maior resposta para estas variáveis apresentam melhor desenvolvimento, aumentando a chance de sobrevivência quando transplantadas para o campo (REIS et al., 2000).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento de miniestacas de *Khaya ivorensis*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

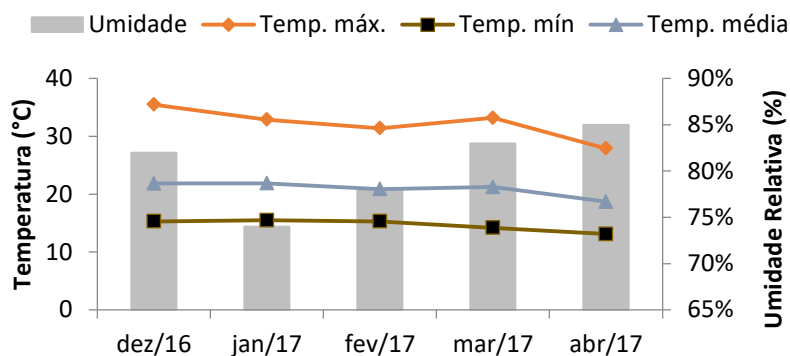
### 2.1 Caracterização do local dos Experimentos

Os experimentos foram conduzidos entre os meses de dezembro de 2016 e abril de 2017, no Centro Integrado de Propagação de Espécies Florestais (CIPEF), do Departamento de Engenharia Florestal, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), em Diamantina, MG.

O município localiza-se no Alto Vale do Jequitinhonha, na região do Espinhaço Meridional (ABREU et al., 2005). Segundo a classificação de Köppen o clima da região é do tipo Cwb, temperado úmido, com inverno seco e chuvas no verão, com latitude 18°15'S, longitude 43°36'O, e altitude média de 1296,1 m. A temperatura média anual é de 18,3°C, apresentando máxima média de 23,7°C e mínima média de 14,1°C (INMET, 2018). A precipitação média anual é de 1404 mm, e o período chuvoso ocorre de outubro a março e representa 88% do total precipitado durante o ano (VIEIRA et al., 2010).

Os dados de temperatura e umidade relativa do ar, obtidos da estação meteorológica do CIPEF/UFVJM, nos ambientes onde foram conduzidos os experimentos são apresentados na Figura 1.

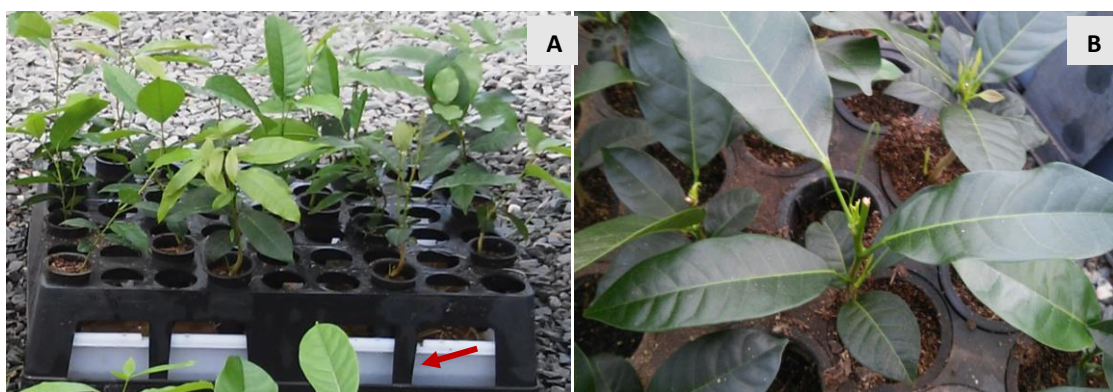
**Figura 01-** Temperatura máxima, média, mínima e umidade relativa do ar. Os dados de dezembro a março são referentes à estação meteorológica localizada dentro da casa de vegetação, e os dados de abril da estação meteorológica da casa de sombra do CIPEF/ UFVJM.



## 2.2 Formação das Minicepas

As minicepas foram obtidas a partir de mudas de origem seminal. As sementes foram germinadas em câmara do tipo BOD em agosto de 2016, e posteriormente transplantadas para tubetes plásticos, com volume de 180 cm<sup>3</sup>, contendo substrato composto por 70% bioplant + 30% vermiculita e 5g L<sup>-1</sup> de Osmocot® (15-9-12) de liberação lenta de seis meses. Os tubetes foram acondicionados em bandejas com capacidade de 10 litros, preenchidos com água e solução nutritiva, onde se realizou a fertirrigação de superfície conforme a Figura 2A. Após 90 dias, procedeu-se a poda do ápice das mudas visando estimular a formação de brotações pela quebra da dominância apical (Figura 2B).

**Figura 02-** Formação das minicepas de mogno africano. A) Mudas acondicionadas em bandejas contendo água e solução nutritiva. B) Muda podada para a emissão das brotações.



As minicepas receberam solução nutritiva (Tabela 1) aplicada dentro de cada bandeja, sendo renovada semanalmente.

**Tabela 01-** Composição da solução nutritiva aplicada nas mudas de mogno africano.

Nutriente	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
N	300
P	200
K	150
Ca	75
Mg	15
S	50
B	0,5
Cu	1,5
Fe	5
Mo	0,1
Zn	5

Fertilizante Utilizado	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
Fosfato de Potássio	522,11
Sulfato de Magnésio	152,12
Sulfato de Amônio	111,59
Nitrato de Cálcio	441,92
Fosfato de Amônio	346,07
Ureia	322,75
Sulfato de Zinco	21,99
Molibdato de Sódio	0,252
Sulfato de Cobre	5,89
Cloreto de Ferro	24,20
Ácido Bórico	2,86

**Fonte:** Adaptado de Malavolta (1980).

O material botânico da espécie compõe o banco do herbário Dendrológico Jeanine Felfili, cuja exsicata possui registro HDJF5841.

### 2.3 Coleta e Preparo das Miniestacas

A coleta das miniestacas realizou-se após 30 dias após a poda do ápice das mudas. As brotações foram coletadas com o auxílio de uma tesoura de poda previamente esterilizada com álcool (70% v/v), no período da manhã, visando à redução da evapotranspiração das miniestacas. Como forma de manter as condições de vigor e turgescência, o material vegetal foi acondicionado em recipiente com água, protegido da radiação solar, com o objetivo de evitar a desidratação até o preparo das miniestacas.

As miniestacas foram tratadas com solução de Ácido Indolbutírico (AIB), em concentrações variando de acordo com os tratamentos (0, 500, 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup>), dissolvido em hidróxido de sódio (NaOH) a 1 mol L<sup>-1</sup>, e acrescido de água destilada.

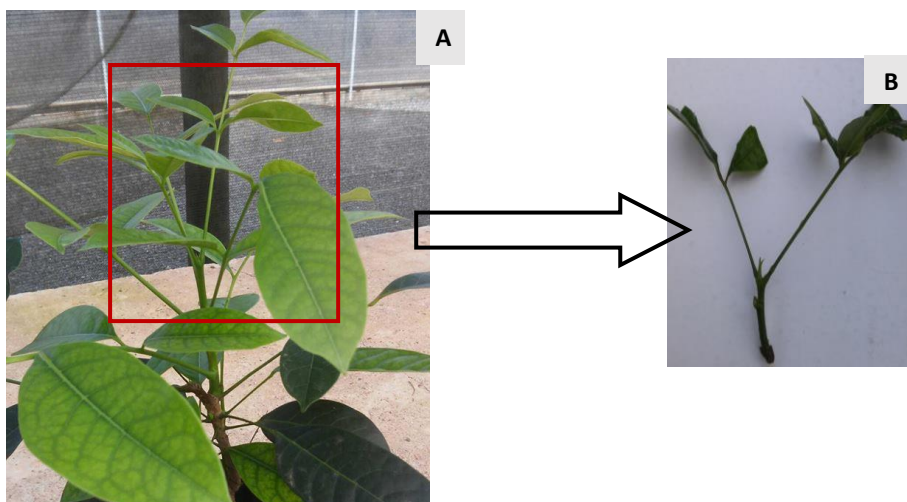
O período entre a confecção das miniestacas e o estaqueamento destas no substrato foi realizado o mais rápido possível (aproximadamente uma hora), objetivando evitar a perda de vigor e a oxidação da base das miniestacas.

## 2.4 Condução dos Experimentos

### 2.4.1 Enraizamento de miniestacas caulinares em diferentes concentrações de AIB

Foram utilizadas miniestacas caulinares retiradas da parte apical, as quais foram preparadas com um corte reto na base para evitar a formação de raízes unilaterais. As miniestacas apresentaram comprimento de 4 cm ( $\pm 1$  cm), sendo mantido uma folha em cada lado, com redução de aproximadamente 75% da sua área foliar (Figura 03).

**Figura 03-** Preparo da miniestaca caular de mogno africano. A) Muda com brotações, destacando a porção utilizada para a obtenção da miniestaca. B) Miniestaca apical utilizada com padrão no presente estudo.

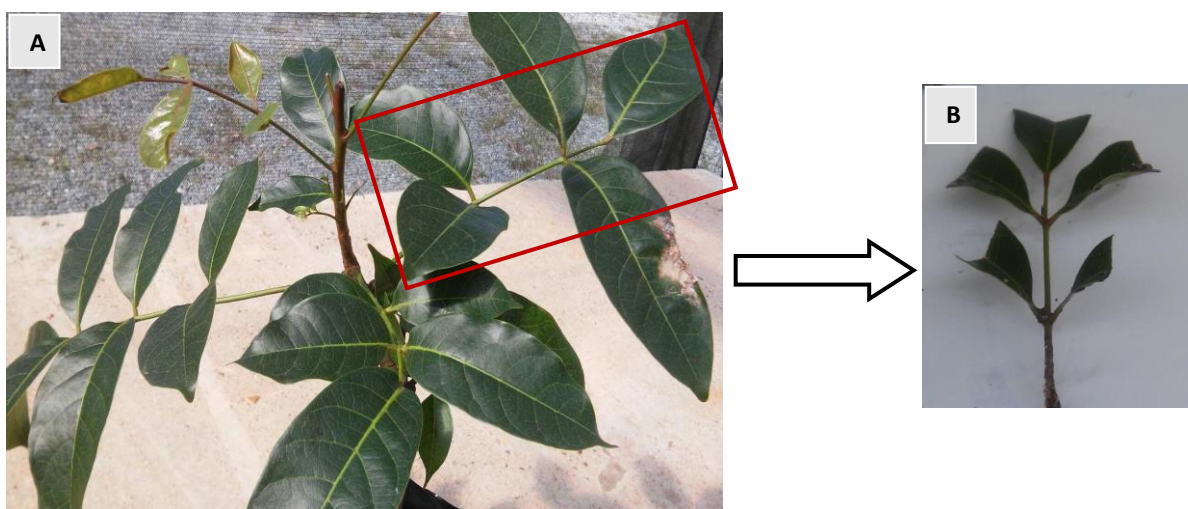


Os tratamentos foram quatro concentrações de AIB (0, 500, 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup>) em solução. A região basal das miniestacas foi mergulhada na solução de AIB por vinte segundos. Logo após serem submetidas aos tratamentos, foram estaqueadas em tubetes plásticos de volume de 180 cm<sup>3</sup>, com inserção de aproximadamente 2 cm da região basal da miniestaca no substrato. Este foi composto por 70% vermiculita, 30% casca de arroz, acrescidos de 8 g L<sup>-1</sup> Osmocot<sup>®</sup> (15, 9, 12) com liberação lenta de 5 a 6 meses. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), constituído por quatro tratamentos, com três repetições e doze miniestacas por repetição.

### 2.4.2 Enraizamento de miniestacas foliares em diferentes concentrações de AIB

Foram utilizadas miniestacas foliares, obtidas do segmento da folha, apresentando comprimento de 8 cm ( $\pm 1$  cm), sendo mantidos cinco folíolos, reduzidos a 75% do seu tamanho original (Figura 04).

**Figura 04-** Preparo da miniestaca foliar de mogno africano. A) Porção da muda utilizada para a obtenção da miniestaca foliar. B) Miniestaca foliar utilizado como padrão no presente estudo.



Os tratamentos consistiram nas concentrações de 0, 500, 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup> de AIB em miniestacas foliares. As regiões basais das miniestacas foram imersas na solução de AIB por vinte segundos. Posteriormente foram estaqueadas em tubetes plásticos de volume de 180 cm<sup>3</sup>, com inserção de aproximadamente 2 cm da região basal da miniestaca no substrato. Este foi composto por 70% vermiculita, 30% casca de arroz, acrescidos de 8 g L<sup>-1</sup> Osmocot® (15, 9, 12) com liberação lenta de 5 a 6 meses. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), constituído por quatro tratamentos, com três repetições e doze miniestacas por repetição.

## 2.5 Condução dos Experimentos e Análise Estatística

Após o estaqueamento, os experimentos foram mantidos em casa de vegetação coberta com filme plástico de 150 microns de espessura e sombrite com redução de 50% da luminosidade, submetidos a irrigações diárias de 30 segundos a cada 20 minutos por nebulização (nebulizador FOGGER com vazão de 7 L/hora).



Após 90 dias, retiraram-se os experimentos da casa de vegetação, e estes foram avaliados. Para o experimento com miniestacas foliares foram avaliados a porcentagem de enraizamento e número de raízes por miniestacas enraizadas, encerrando neste local o experimento. Já para o experimento de miniestacas caulinares foram avaliadas apenas seis miniestacas por repetição, escolhidas de maneira aleatória, onde avaliou-se a porcentagem de sobrevivência (miniestacas que apresentavam folhas ou brotações), porcentagem de enraizamento, número de raízes por miniestaca enraizada, comprimento da maior raiz, matéria seca da parte aérea e raízes, e área foliar (AF) obtida das folhas novas que surgiram.

As miniestacas caulinares restantes foram transferidas para aclimação em casa de sombra coberta com tela de sombreamento de 50%, com cinco irrigações diárias de cinco minutos (microaspersor bailarina invertida, com vazão de 85 L/hora) onde permaneceram por mais 30 dias. Posteriormente foram avaliadas a porcentagem de sobrevivência (miniestacas que apresentavam folhas ou brotações), as porcentagens de miniestacas enraizadas, a altura (medida da seção superior do tubete até a gema apical), o diâmetro do coleto, e a matéria seca da parte aérea e raízes.

Para estes experimentos foram consideradas enraizadas as miniestacas que apresentavam no mínimo uma raiz adventícia com comprimento igual ou superior a 0,5 cm. Para medição da altura e diâmetro, foram utilizados respectivamente, uma régua milimetrada e um paquímetro digital.

Para avaliar a matéria seca da parte aérea e do sistema radicular das mudas, os materiais foram colocados separadamente em sacos de papel, devidamente identificados, em estufa de circulação forçada, a 65°C, até que se alcançasse peso constante. Utilizou-se para a pesagem uma balança digital de precisão. Para avaliar o sistema radicular, foi retirado todo o excesso de substrato com água.

Para obtenção da área foliar, as folhas foram distribuídas manualmente, sobre papel branco de tamanho A4. Com o auxílio de uma câmera digital, apoiada em suporte de altura fixa (0,5 m), foram obtidas as imagens digitais. Utilizou-se o programa AFSOFT® versão 1.1 (JORGE; SILVA, 2009), onde a partir das imagens processadas gerou-se a área foliar (cm<sup>2</sup>).

Os dados coletados foram submetidos ao teste de Bartlett para verificar a homogeneidade de variância e ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a distribuição normal. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância, e quando houve diferença significativa pelo teste F, utilizou-se regressão ao nível de 5% de significância. Os dados

foram analisados no software R versão 3.0.1 (R CORE TEAM, 2013) utilizando os pacotes ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013).

Os dados de porcentagem de miniestacas caulinares enraizadas na saída da casa de vegetação foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, a 5% de significância, e posteriormente a correlação de Spearman. A opção pelo teste não paramétrico foi devido aos dados não atenderem aos requisitos de homogeneidade de variância e normalidade, mesmo depois de transformados.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Enraizamento de miniestacas caulinares em diferentes concentrações de AIB

##### 3.1.1 Sobrevivência na saída da casa de vegetação

Na Tabela 02 é apresentado o resumo da análise de variância para a sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, aos 90 dias. Para esta variável não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as concentrações de AIB testadas.

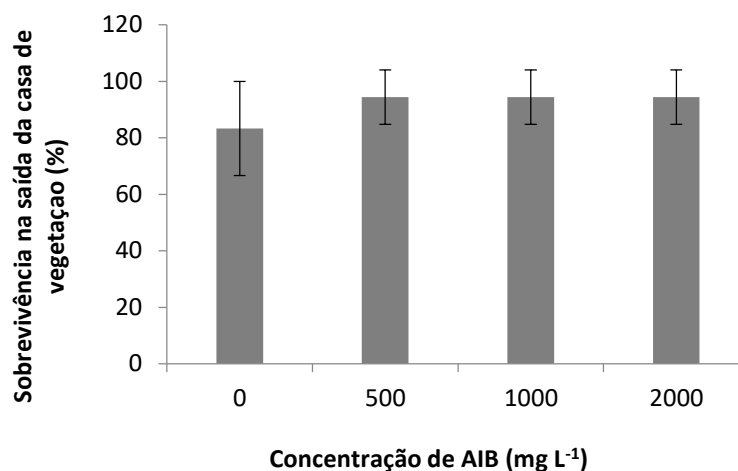
**Tabela 02-** Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência de miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 90 dias.

FV	GL	QM
Tratamento	3	92,574 <sup>ns</sup>
Resíduo	8	138,903
Cv(%)	12,86	

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; CV: Coeficiente de Variação; <sup>ns</sup> valor não significativo ao nível de 5% de significância.

De acordo com a Figura 05, pode-se observar que houve alta porcentagem de sobrevivência das miniestaca (média geral de 91%), independentes dos tratamentos utilizados. Esse resultado assemelha-se com o encontrado por Souza et al. (2009) com *Toona ciliata* (100%), e por Vasconcelos (2012) com o *Khaya senegalensis* (100%).

**Figura 05-** Sobrevivência das miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis* aos 90 dias, em diferentes concentrações de AIB. As barras indicam o desvio-padrão.

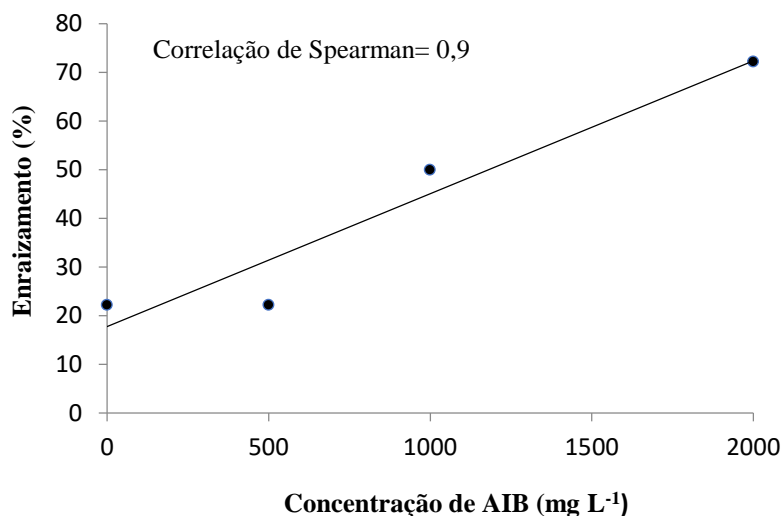


A alta sobrevivência pode ser explicada, dentre vários fatores, à presença de folhas nas miniestacas, que são fonte de carboidratos, fornecendo energia suficiente para sua manutenção (ALFENAS et al., 2004). Outro fator pode ser devido às condições ambientais controladas dentro da casa de vegetação, que garantem a manutenção da sobrevivência dos propágulos vegetativos para formação das raízes (WENDLING; XAVIER, 2005). Vale ressaltar que a sobrevivência das miniestacas em casa de vegetação não garante o sucesso no enraizamento, mas é um fator importante para que se alcance este objetivo (IRITANI; SOARES, 1983). Dessa maneira, os maiores índices de mortalidade podem ocorrer durante a transferência da casa de vegetação para a casa de sombra (aclimatação), onde as condições ambientais são alteradas, tais como a redução da umidade e temperatura (BRONDANI et al., 2008).

### 3.1.2 Porcentagem de Enraizamento na saída da casa de vegetação

Observou-se efeito significativo pelo teste Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ) para as diferentes concentrações de AIB, e correlação de Spearman igual a 0,9. Esse coeficiente alto e positivo da correlação de Spearman mostra uma relação crescente entre as concentrações de AIB e o enraizamento. Na Figura 06 é apresentada a dispersão dos dados do enraizamento, sendo que a maior porcentagem de enraizamento (72%) ocorreu no tratamento com 2000 mg L<sup>-1</sup> de AIB.

**Figura 06-** Coeficiente de correlação de Spearman positivo correspondendo a uma relação crescente entre diferentes concentrações de AIB e porcentagem de enraizamento de miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, na saída da casa de vegetação.



Observou-se que na ausência de regulador de crescimento o enraizamento foi de 22%, o que pode ser atribuído às características juvenis da planta matriz dos quais foram obtidas as miniestacas, onde o balanço hormonal interno pode estar adequado para que ocorra o enraizamento. Estacas provenientes de plantas jovens enraízam com mais facilidade e esse fato está relacionado com o maior número de cofatores do enraizamento e menor conteúdo de inibidores (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

Segundo Hartmann et al. (2002), o aumento da concentração de auxinas aplicadas em estacas, induz a formação de raízes até certo ponto, a partir do qual qualquer acréscimo do nível de auxina torna-se inibitório. Neste trabalho, as miniestacas de *Khaya ivorensis* responderam de forma crescente às concentrações de AIB utilizadas, sendo observado 72% de enraizamento para a maior concentração utilizada (2000 mg L<sup>-1</sup>). Desta forma, pode-se inferir que para a inibição do enraizamento seria necessário concentrações mais altas da auxina.

### 3.1.3 Número e comprimento de raízes das miniestacas enraizadas na saída da casa de vegetação

As diferentes concentrações de AIB não influenciaram de forma significativa ( $p > 0,05$ ) no número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz, na saída da casa de vegetação, aos 90 dias, como mostra a Tabela 03.

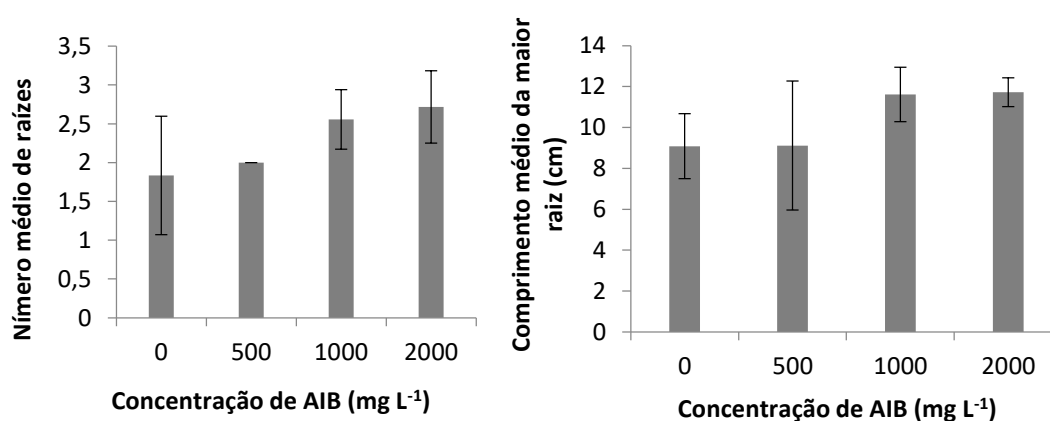
**Tabela 03-** Resumo da análise de variância para número médio de raízes (NMR) e comprimento médio da maior raiz (CMR) de miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 90 dias.

FV	GL	Quadrado Médio	
		NMR	CMR
Tratamento	3	0,54323 <sup>ns</sup>	4,5743 <sup>ns</sup>
Resíduo	8	0,2372	4,5417
CV(%)		21,4	20,86

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; CV: Coeficiente de Variação; <sup>ns</sup> valor não significativo ao nível de 5% de significância.

Apesar de não apresentarem diferenças significativas, as concentrações de 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup> foram as que apresentaram os maiores valores absolutos para o número de médio de raízes (2,56 e 2,72 respectivamente) e comprimento médio da maior raiz (11,62 e 11,73 cm, respectivamente) (Figura 07). Essas variáveis são de bastante relevância na produção de mudas, uma vez que mudas com sistema radicular bem formado possuem maiores chances de sobrevivência e melhor desenvolvimento pós-plantio (OLIVEIRA et al., 2015).

**Figura 07-** Número médio de raízes e comprimento da maior raiz das miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 90 dias, em diferentes concentrações de AIB. As barras indicam o desvio-padrão.



### 3.1.4 Área foliar, matéria seca da parte aérea e raiz na saída da casa de vegetação

A Tabela 04 apresenta o resumo da análise de variância para a área foliar, matéria seca da parte aérea e raiz.

**Tabela 04-** Resumo da análise de variância para área foliar (AF), matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca de raiz (MSR) de miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 90 dias.

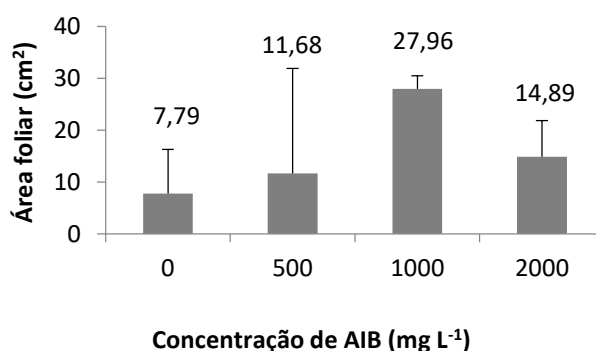
FV	GL	Quadrado Médio		
		AF	MSPA	MSR
Tratamento	3	229,72 <sup>ns</sup>	0,002921 <sup>ns</sup>	0,044556 <sup>ns</sup>
Resíduo	8	134,13	0,001125	0,016404
CV(%)		74,33	41,33	38,15

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; CV: Coeficiente de Variação; <sup>ns</sup> valor não significativo ao nível de 5% de significância.

Para a área foliar, observou-se que não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre as concentrações de AIB utilizadas, embora, numericamente, foi possível verificar um aumento considerável na área foliar na concentração de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  apresentando valor de  $27,96 \text{ cm}^2$  (Figura 08).

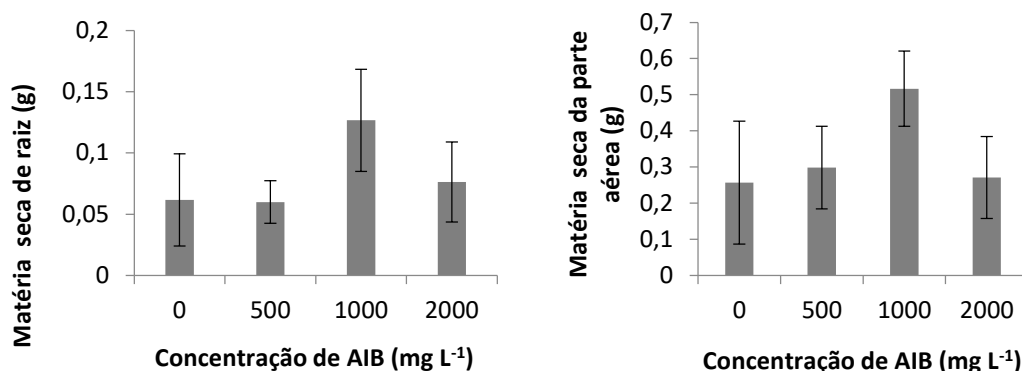
A área foliar de uma espécie vegetal está relacionada com a sua capacidade fotossintética, interceptação de luz, entre outras características (SEVERINO et al., 2004). A maior parte do processo fotossintético ocorre nas folhas, sendo assim, em mudas que apresentam maior número de folhas espera-se ter um maior crescimento e produtividade, devido à maior produção de fotoassimilados (FARIA; GAIVA; PEREIRA, 2002).

**Figura 08-** Área foliar das miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 90 dias, em diferentes concentrações de AIB. As barras indicam o desvio-padrão.



A matéria seca da parte aérea e raiz também não apresentaram diferenças significativas ( $p>0,05$ ) em função das concentrações de AIB. Os maiores valores absolutos acumulados de biomassa nas miniestacas caulinares foram encontrados na concentração de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , apresentando matéria seca de raiz de 0,13 gramas e matéria seca de parte aérea de 0,52 gramas (Figura 09).

**Figura 09-** Matéria seca da parte aérea e de raiz das miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 90 dias, em diferentes concentrações de AIB. As barras indicam o desvio-padrão.



### 3.1.5 Sobrevivência e Enraizamento na saída da casa de sombra

Na Tabela 05 é apresentado o resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência e enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra, aos 120 dias. Para estas variáveis obteve-se diferença significativa entre as concentrações de AIB testadas ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 05-** Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência (SOB) e porcentagem de enraizamento (ENR) de miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 120 dias.

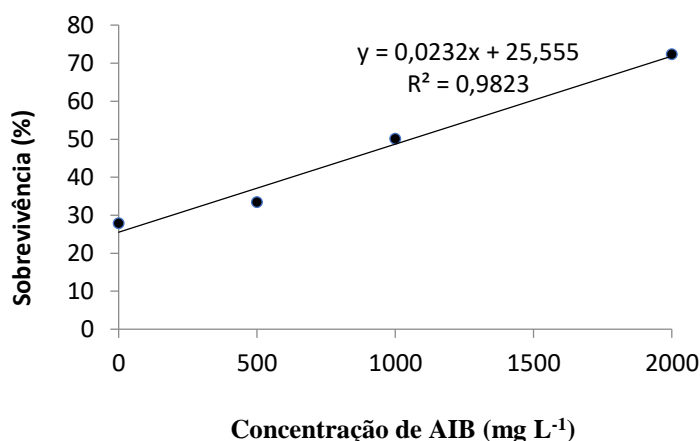
FV	GL	QM	
		SOB	ENR
Tratamento	3	1195,91*	1195,91*
Resíduo	8	254,61	254,61
CV(%)		34,81	34,81

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; CV: Coeficiente de Variação; \* Diferença significativa a 5% de significância.

O acréscimo da concentração de AIB aumentou linearmente a porcentagem de miniestacas vivas (Figura 10), apresentando 72% de sobrevivência para a concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup>. Percebe-se que houve redução da sobrevivência em comparação com a casa de vegetação, sendo essa redução esperada, uma vez que quando as miniestacas são retiradas do ambiente da casa de vegetação, as mudas sofrem um impacto com as condições ambientais, como luz, temperatura e umidade. Além disso, na saída da casa de vegetação, algumas miniestacas ainda não estavam enraizadas, ou possuíam raízes insuficientes para garantir a sobrevivência na continuidade do processo, mas foram consideradas sobreviventes, por apresentarem folhas verdes (ROSA, 2006). Sem as raízes, as miniestacas transferidas para a casa de sombra consomem suas reservas energéticas resultando em sua posterior mortalidade

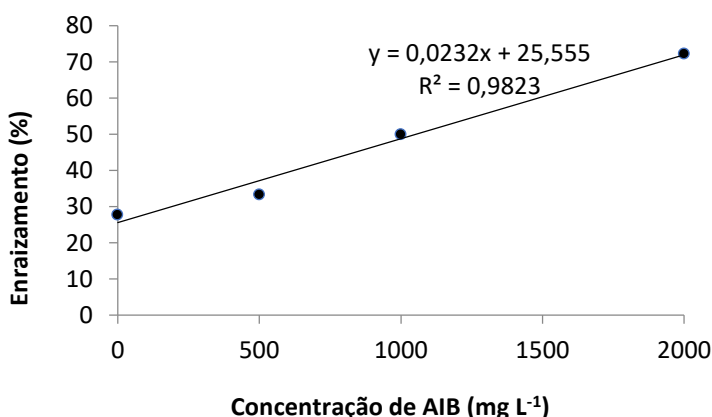
(WENDLING, 1999). Esse fato mostra a importância de conhecer o tempo ótimo de permanência das miniestacas na casa de vegetação, para que ocorra adequado enraizamento (FERREIRA et al., 2004).

**Figura 10-** Porcentagem de sobrevivência de *Khaya ivorensis* em função das diferentes concentrações de AIB, aos 120 dias.



A porcentagem de enraizamento na saída da casa de sombra seguiu a mesma tendência de crescimento linear da sobrevivência. Isso ocorreu uma vez que a porcentagem de miniestacas vivas neste ambiente está relacionada com a formação de sistema radicular adequado (Figura 11).

**Figura 11-** Porcentagem de enraizamento de *Khaya ivorensis* em função das diferentes concentrações de AIB, aos 120 dias.



Analisando o enraizamento em função das concentrações de AIB na saída da casa de sombra, observa-se que as miniestacas sem o regulador de crescimento obtiveram a menor porcentagem de sobrevivência (27,7%), seguidas das miniestacas com concentrações de 500 e



1000 mg L<sup>-1</sup>, com respectivas porcentagem de 33,3% e 50%. Com a maior concentração de AIB, 2000 mg L<sup>-1</sup>, obteve-se a maior taxa de enraizamento (72,2%), indicando que a espécie respondeu positivamente ao aumento das concentrações utilizadas de auxina. Os resultados observados assemelham-se com os de Barbosa Filho (2015), onde em seu experimento com miniestacas de *Khaya anthotheca* foram encontrados porcentagem de enraizamento variando de 17 a 81%, sendo os melhores índices de enraizamento encontrados na concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup> de AIB.

Em termos gerais, as miniestacas enraizadas apresentaram desenvolvimento normal, com emissão de raízes primárias (responsáveis pela fixação da planta ao substrato), raízes secundárias (absorção de água e nutrientes), e com hábito de crescimento ortotrópico (vertical). Estas características são muito importantes para a qualidade final das mudas (Figura 12).

**Figura 12-** Desenvolvimento de mudas de *Khaya ivorensis*. A) Desenvolvimento de um sistema radicular apresentando raízes primárias e secundárias. B) Muda com crescimento ortotrópico (vertical).



### 3.1.6 Número médio de raiz por miniestaca enraizada, altura, diâmetro e matéria seca de parte aérea e raiz na saída da casa de sombra

Na Tabela 06 está apresentado o resumo da análise de variância para as variáveis número médio de raiz (NMR), altura (h), diâmetro (d), matéria seca de parte aérea (MSPA) e matéria seca de raiz (MSR), na saída da casa de sombra, aos 120 dias após o estaqueamento. Nota-se que o efeito dos tratamentos só foi significativo ( $p < 0,05$ ) para a variável diâmetro.

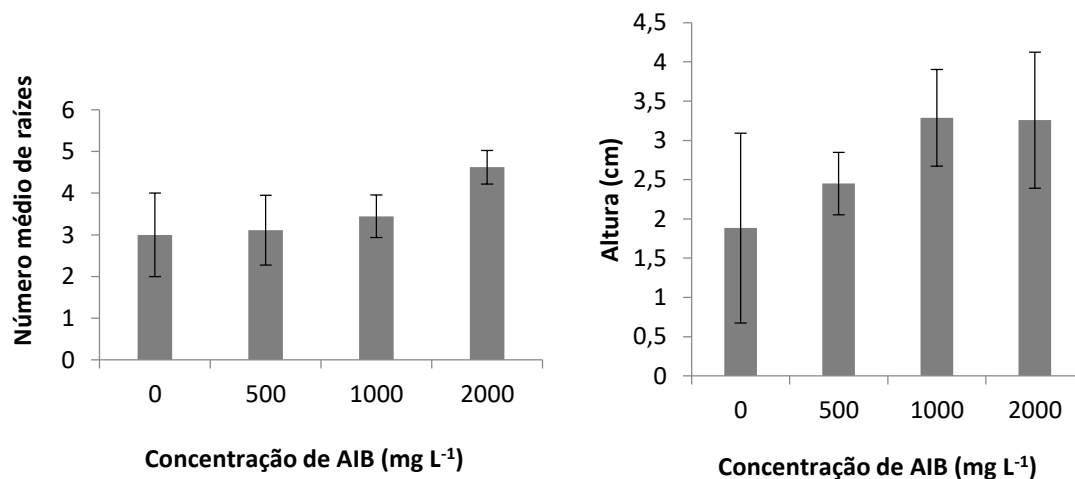
**Tabela 06-** Resumo da análise de variância para número médio de raiz (NMR), altura (h), diâmetro (d), matéria seca da parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) de miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 120 dias.

FV	GL	Quadro Médio				
		NMR	h	d	MSPA	MSR
Tratamento	3	1,6568 <sup>ns</sup>	1,3858 <sup>ns</sup>	0,9397*	0,1588 <sup>ns</sup>	0,02616 <sup>ns</sup>
Resíduo	8	0,53	0,6884	0,1286	0,06462	0,01181
CV(%)		20,56	30,5	11,04	31,97	35,23

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; CV: Coeficiente de Variação; \* Diferença significativa a 5% de significância; <sup>ns</sup>: valor não significativo ao nível de 5% de significância.

Apesar de não apresentarem diferenças significativas, a concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup> foi a que apresentou o maior valor absoluto para número médio de raízes (4,62) e as concentrações de 1000 mg L<sup>-1</sup> e 2000 mg L<sup>-1</sup> as maiores alturas (3,29 e 3,26 cm respectivamente), conforme Figura 13. Observa-se que as mudas no geral apresentaram pequeno ganho em altura. Uma provável explicação para o menor desenvolvimento em altura pode ser devido à espécie possuir folha composta, desta maneira, houve inicialmente um maior investimento em formação de folhas.

**Figura 13-** Número de raízes e altura das miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 120 dias, em diferentes concentrações de AIB. As barras indicam o desvio-padrão.

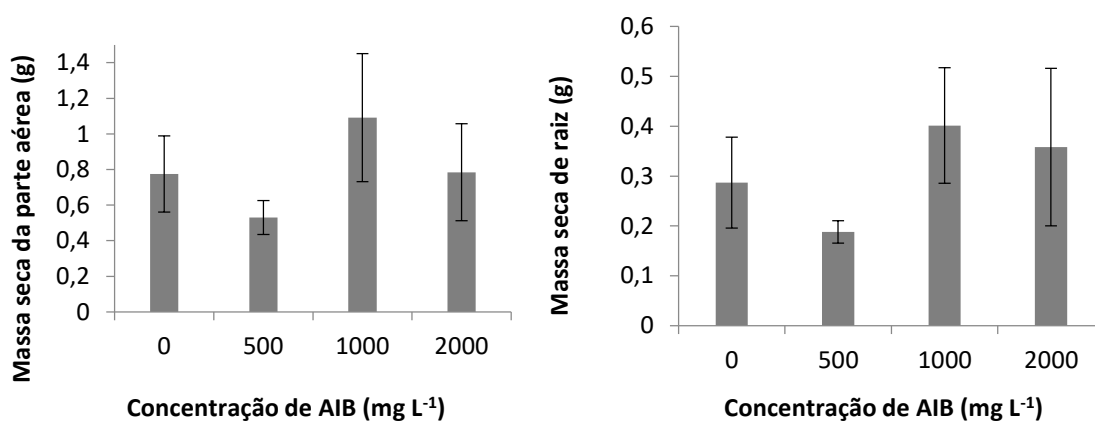


As matérias secas da parte aérea e de raiz não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre as concentrações de AIB testadas. A concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> de AIB foi que proporcionou as maiores quantidades de biomassas de parte aérea (1,09 g) e raiz (0,40 g) (Figura 14).

Na concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup> de AIB ocorreu maior número de raízes. No entanto, a matéria seca de raiz nessa concentração foi menor que na concentração de 1000

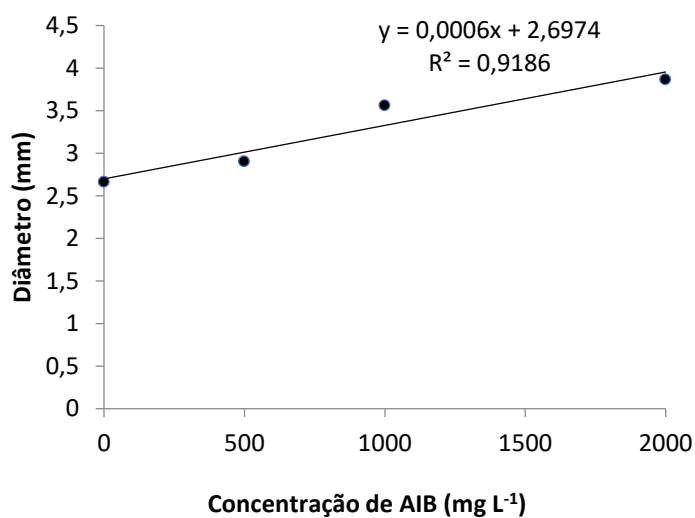
mg L<sup>-1</sup> (Figuras 13 e 14), isso sugere que houve um incremento em raízes finas, que por apresentarem uma maior superfície de absorção, são responsáveis pela absorção de água e nutrientes (LOPES et al., 2010), sendo um fator importante para o desenvolvimento das mudas (FREITAS, 2007).

**Figura 14-** Matéria seca da parte aérea e da raiz das miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 120 dias, em diferentes concentrações de AIB. As barras indicam o desvio-padrão.



O diâmetro exibiu aumento linear em função das concentrações de AIB, apresentando na concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup> diâmetro médio de 3,89 mm (Figura15).

**Figura 15-** Diâmetro do colo das miniestacas caulinares de *Khaya ivorensis*, aos 120 dias, em diferentes concentrações de AIB.



Observou-se que a prática da poda do ápice caulinar das mudas de *Khaya ivorensis* para a coleta de brotos, não afetou a sobrevivência das minicepas. Este comportamento demonstra a sustentabilidade do minijardim clonal, viabilizando a propagação vegetativa da espécie através da técnica de miniestaquia.

### 3.2 Enraizamento de miniestacas foliares em diferentes concentrações de AIB

Na Tabela 07 é apresentado o resumo da análise de variância para a porcentagem de enraizamento e número de raízes para as miniestacas foliares na saída da casa de vegetação, aos 90 dias. Para estas variáveis obtiveram-se diferenças significativas entre as concentrações de AIB testadas ( $p < 0,05$ ).

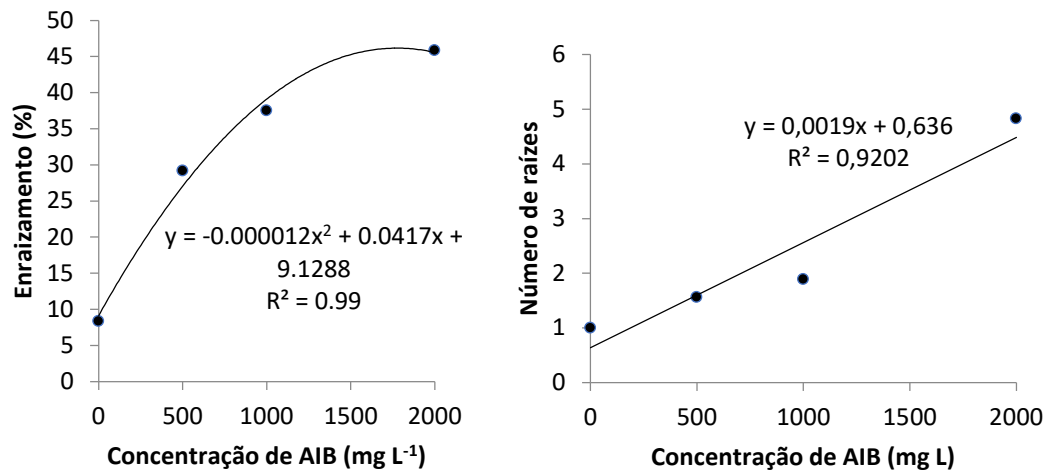
**Tabela 07-** Resumo da análise de variância para porcentagem de enraizamento e número de raízes de miniestacas foliares de *Khaya ivorensis*, aos 90 dias.

FV	GL	QM	
		Enraizamento	n° de raízes
Tratamento	3	776,91*	8,8295*
Resíduo	8	39,06	0,6834
CV(%)		20,69	35,64

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; CV: Coeficiente de Variação; \* Diferença significativa a 5% de significância.; <sup>ns</sup>: valor não significativo ao nível de 5% de significância.

Observou-se tendência de crescimento quadrático para a porcentagem de enraizamento de miniestacas foliares em relação às concentrações de AIB, apresentando 46% de enraizamento para a concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup>. Já o número de raízes aumentou de forma linear, apresentando na concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup> média de 4,8 raízes (Figura 16).

**Figura 16-** Porcentagem de enraizamento e número de raízes das miniestacas foliares de *Khaya ivorensis*, aos 90 dias, em diferentes concentrações de AIB.



Apesar das miniestacas foliares terem respondido de forma positiva a aplicação do AIB, apresentando durante o período de avaliação formação e crescimento radicular, essas não foram consideradas adequadas para a propagação vegetativa do mogno africano, uma vez que não apresentaram desenvolvimento da parte aérea (Figura 17).

**Figura 17-** Miniestacas foliares de *Khaya ivorensis* enraizadas, porém sem o desenvolvimento da parte aérea.



A utilização de miniestaca foliar pode ser considerada uma alternativa para que se tenha maior produtividade na coleta de miniestacas, uma vez que em espécies como o mogno africano que apresentam folhas compostas, tem-se uma baixa produtividade de miniestacas caulinares. Porém, como é relatado por Xavier, Santos e Oliveira (2003), a miniestaca foliar necessita que se tenha a formação adventícia tanto do sistema radicular como da parte aérea, o que dificulta a sua utilização na área florestal.

Segundo Hartmann et al. (1997), a maioria das estacas foliares enraízam com facilidade, porém apresentam certa limitação para regeneração e desenvolvimento da parte aérea. Esse tipo de estaca tem sido utilizado com maior frequência na floricultura e jardinagem.

Xavier, Santos e Oliveira (2003), e Moraes et al. (2014), estudando respectivamente as espécies *Cedrela fissilis* (cedro-rosa) e *Toona ciliata* (cedro australiano), também não obtiveram desenvolvimento de parte aérea nas miniestacas foliares enraizadas, indicando que para essas espécies esse tipo de estaca não possui a competência de desenvolver novos meristemas caulinares.

#### 4 SUSCEPTIBILIDADE DE *KHAYA IVORENSIS* AO ATAQUE DE COCHONILHA

Observou-se susceptibilidade do mogno africano à cochonilha (gênero *Planococcus*), tanto na casa de vegetação, quanto na casa de sombra (Figura 18). A infestação foi maior nas miniestacas mortas, porém nas vivas também houve ocorrência, mas sem apresentarem danos visíveis à muda. A visualização da presença da cochonilha foi realizada apenas no momento da avaliação do experimento, uma vez que estas se encontravam nas raízes das miniestacas, desta maneira não foi adotada nenhuma medida de prevenção.

**Figura 18-** Miniestacas de *Khaya ivorensis* infestadas por cochonilhas.



## 5 CONCLUSÕES

A produção de mudas de *Khaya ivorensis* por meio da miniestaquia torna-se uma alternativa para a propagação da espécie durante todo o ano, principalmente nas situações em que a semente for um insumo limitante, podendo-se utilizar como propágulos as partes apicais oriundas de mudas cultivadas em viveiro.

A utilização de miniestaca foliar não foi considerada adequada para a propagação vegetativa do mogno africano, uma vez que não houve desenvolvimento da parte aérea.

A concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, dentre as utilizadas, foi a que apresentou as maiores taxas de enraizamento para a espécie, sendo esta concentração recomendada para a propagação vegetativa por miniestaquia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, P. A. A.; FRAGA, L. M. S.; NEVES, S. C. Geologia. In: Silva, A. C.; Pedreira, L. V. S. F.; Abreu, P. A. A. **Serra do Espinhaço Meridional, paisagens e ambientes**. Belo Horizonte: O Lutador, Cap.1. 17-45. 2005.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Editora UFV, 2004, 442p.
- BARBOSA FILHO, J. **Miniestaquia, enxertia e alporquia de *Khaya anthotheca***. 2015. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais), Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2015.
- BRIGHENTI, A. M.; MULLER, M. D. Tolerância de plantas de *Khaya Ivorensis* e *Toona ciliata* A Herbicidas. **FLORESTA**, Curitiba, PR, v. 44, n. 4, p. 747 - 754, 2014.
- BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; ARAUJO, M. A.; PIRES, P. P. Ácido indolbutírico em gel para o enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 153-158, 2008.
- CARVALHO, A. M.; SILVA, B. T. B.; LATORRACA, J. V. F. Avaliação da usinagem e caracterização das propriedades físicas da madeira de mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev.). **Cerne**. Lavras, v. 16, Suplemento, p. 106-114, jul. 2010.
- CASTRO F. S. **Zoneamento agroclimático para a cultura do Pinus no Estado do Espírito Santo**. 2008. 101 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2008.
- CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. Produtividade e sobrevivência de minicepas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage em sistema de hidroponia e em tubete, **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 3, p. 307-310, 2005.
- DIAS, P. C.; OLIVEIRA, L. S. de.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.32, n. 72, p. 453-462. 2012.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.(Ed.). **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2005. p. 69-109.
- FARIA, W. S. de; GAIVA, I. X.; PEREIRA, W. E. Comportamento de cinco genótipos de coqueiro (*Cocos nucifera* L.) na fase de germinação e de crescimento de mudas, sob diferentes sistemas de produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.458-462, 2002.
- FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes.pt: Experimental Designs Pacakge (Portuguese)**. R package version 1.1.2. 2013.



FERREIRA, E. M.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; LEITE, H. G.; SARTORIO, R. C.; PENCHEL FILHO, R. M. Determinação do tempo ótimo do enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus spp.* **Revista Árvore**, v.28, n.2, p.183-187, 2004.

FLORIANO, E. P. **Produção de mudas florestais por via assexuada**. Caderno Didático, n. 3, Santa Rosa, 2004, 37 p.

FREITAS, T. A. S. de. **Produção de mudas de eucalipto em recipiente aberto e fechado**. 2007. 91 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 2007.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6. ed. New Jersey: Prentice Hall, 770 p., 1997.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES Jr., F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR, F. T.; GENEVE, R. L. Hartmann and Kester's **Plant propagation: principles and practices**. 8. ed. New Jersey: Prentice Hall. 2011. 915 p.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia (2018). **Normais Climatológicas do Brasil 1981-2010**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/normaisClimatologicas>>. Acesso em: 26 de maio de 2018.

IRITANI, C.; SOARES, R. V. Indução do enraizamento de estacas de *Araucaria angustifolia* através da aplicação de reguladores de crescimento. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4, 1982, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: SBS, 1983. p. 313-317.

JORGE, L. A. C.; SILVA, D. J. C. **AFSoft**. Software para a análise foliar. Versão 1.1. São Carlos: EMBRAPA Instrumentação Agropecuária, 2009.

LOPES, V. G.; SCHUMACHER, M. V.; CALIL, F. N.; VIERA, M.; WITSCHORECK, R. Quantificação de raízes finas em um povoamento de *Pinus taeda* L. e uma área de campo em cambará do Sul (RS). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 20, p. 569-578, 2010.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora. Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

MORAES, D. G.; BARROSO, D. G.; FIGUEIREDO, F. A. M. M. A.; SILVA, T. R. C. S.; FREITAS, T. A. S. Enraizamento de miniestacas caulinares e foliares juvenis de *Toona ciliata* M. Roemer. **Magistra**, Cruz das Almas – BA, V. 26, n. 1, p. 47 - 54 Jan./Mar. 2014.

NEVES, T. S.; CARPANEZZI, A. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; MARENCO, R. A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variações sazonais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, DF, v.41, n.12, p.1699-1705, 2006.

OLIVEIRA, T. P. F.; BARROSO, D. G.; LAMÔNICA, K. P.; CARVALHO, V.S.; OLIVEIRA, M. A. Efeito do ácido indol-3-butírico (aib) no enraizamento de miniestacas de

ipê-roxo (*Handroanthus heptaphyllus* MATTOS). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 25, n. 4, p. 1043-1051, 2015.

PINHEIRO, A. L.; COUTO, L.; PINHEIRO, D. T.; BRUNETTA, J. M. F. **Ecologia, silvicultura e tecnologia de utilização dos mognos africanos (*Khaya* spp.)**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Agrossilvicultura, 2011. 102 p.

R CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>> Acesso em 21 Julho. 2018.

REIS, J. M. R.; CHALFUN, N. N. J.; LIMA, L. C. de O.; LIMA, U. C. Efeito do estiolamento e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 931-938, 2000.

ROSA, L. S. **Adubação Nitrogenada e Substratos na Miniestaquia de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 2006. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

SEVERINO, L. S.; CARDOSOS, G. D.; VALE, L. S.; SANTOS, J. W. Método para determinação da área foliar da mamoneira. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 8, n.1, p. 753-762, 2004.

SOUZA, F. M. **Caracterização socioeconômica e ambiental de produtos florestais não madeireiros de famílias agroextrativistas, em quatro municípios de Goiás**. 2012. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

SOUZA, J. C. A. V.; BARROSO, D. G.; CARNEIRO, J. G. A.; TEIXEIRA, S. L.; BALBINOT, E. Propagação vegetativa de cedro-australiano (*Toona ciliata* M. Roemer) por miniestaquia. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 205-213. 2009.

VASCONCELOS, R. T. **Enraizamento de estacas de *Khaya senegalensis* A. Juss. em diferentes concentrações de ácido indolbutírico**. 2012. 45 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Estadual Paulista – UNESP, São Paulo, 2012.

VIEIRA, J. P.G.; SOUZA, M. J. H.; TEIXEIRA, J. M.; CARVALHO, F. P. Estudo da precipitação mensal durante a estação chuvosa em Diamantina, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande - PB. v. 14, n. 7, p.762-767, 2010.

WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. 1999. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.

WENDLING, I.; DUTRA, L.F. Solução nutritiva para condução de minicepas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Colombo: Embrapa Florestas, 2008. 5p. (Circular Técnica 157).

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.6, p. 921-930, 2005.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. Clonagem de espécies florestais nativas. In ROCHA, M. G. B. **Melhoramento de espécies arbóreas nativas**. Minas Gerais, Instituto Estadual de Florestas, 2002, 171p.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A.; OLIVEIRA, M. L. Enraizamento de miniestaca caular e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.) **Revista Árvore**, v.27, n.3, p.351-356, 2003.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal - Princípios e Técnicas**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2009. 272p.

XAVIER A.; WENDLING, L.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. 2. ed. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2013. 279 p.

### **CAPÍTULO 03 - MICROPROPAGAÇÃO DE MOGNO AFRICANO (*Khaya ivorensis* A. Chev)**

#### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi estabelecer procedimentos de micropropagação para o mogno africano (*Khaya ivorensis*). Para a germinação “in vitro” utilizou-se sementes adquiridas comercialmente, e foram realizados dois experimentos. No primeiro avaliou-se tempos de imersão em hipoclorito de sódio (10, 20, 30 e 40 minutos) na desinfestação das sementes, e no segundo o meio de cultura MS acrescidos de aditivos (carvão ativado + sacarose, carvão ativado sem sacarose, PVP + sacarose, PVP sem sacarose) na germinação “in vitro”. Na introdução e estabelecimento foram utilizados ápices caulinares de mudas de mogno africano cultivados em viveiro, testando-se concentrações de hipoclorito de sódio (1,25 e 2,5%) e antioxidantes (carvão ativado e PVP). Na multiplicação foram usados explantes retirados de plantas germinadas “in vitro” isentas de contaminação, introduzidas em meio de cultura MS, suplementados com concentrações de BAP e ANA. Na pré-aclimatação, foram utilizadas plantas oriundas da multiplicação, estas foram transferidas para copos de polietileno contendo substrato vermiculita. Estes foram cobertos com plástico transparente por 10 dias e posteriormente, foram aplicados os tratamentos de retirada ou manutenção da cobertura intacta do plástico. Na aclimatação, as plantas sobreviventes da pré-aclimatação foram transplantadas para tubetes contendo substrato vermiculita, adicionado de 8 g L<sup>-1</sup> de Osmocote® (19-06-10), e mantidas em casa de vegetação. O tratamento mais eficiente para a assepsia de sementes de mogno africano foi a desinfestação em hipoclorito de sódio 2,5% por 20 minutos, onde se obteve as melhores taxas de germinação e menor contaminação. Em relação ao meio de cultura para a germinação, os melhores resultados foram encontrados para o meio contendo carvão ativado e sacarose. Para o estabelecimento “in vitro”, o tratamento que apresentou os melhores resultados foi a utilização de hipoclorito de sódio 2,5% acrescido de carvão ativado. Em relação à multiplicação, os tratamentos apresentaram baixa taxa de multiplicação. Na pré-aclimatação e aclimatação a maior porcentagem de sobrevivência ocorreu quando se manteve a cobertura plástica intacta no entorno da planta.

**Palavra-chave:** Cultura de tecido, reguladores de crescimento, propagação de plantas.

## ABSTRACT

The objective of this work was to establish micropropagation procedures for African mahogany (*Khaya ivorensis*). For in vitro germination, commercially acquired seeds were used, and two experiments were performed. In the first one the immersion times in sodium hypochlorite (10, 20, 30 and 40 minutes) in the disinfestation of the seeds were evaluated, and in the second the MS culture medium added with additives (activated charcoal + sucrose, activated charcoal without sucrose, PVP + sucrose, PVP without sucrose) in "in vitro" germination. In the introduction and establishment, stem apices of African mahogany seedlings grown in nurseries were tested, and concentrations of sodium hypochlorite (1,25 and 2,5%) and antioxidants (activated charcoal and PVP) were tested. In the multiplication, explants from contaminated, in vitro germinated plants inoculated in MS culture medium supplemented with BAP and ANA concentrations were used. In pre-acclimatization, the plants were transferred to polyethylene cups containing vermiculite substrate. These were covered with clear plastic for 10 days and afterwards treatments were applied for removal or maintenance of the intact cover of the plastic. In acclimatization, the surviving pre-acclimation plants were transplanted into tubes containing vermiculite substrate, added with 8 g L<sup>-1</sup> of Osmocote® (06-19-10), and kept in a greenhouse. The most efficient treatment for the asepsis of African mahogany seeds was disinfestation in 2,5% sodium hypochlorite for 20 minutes, where the best germination rates and lower contamination were obtained. Regarding the culture medium for germination, the best results were found for the medium containing activated carbon and sucrose. For the "in vitro" establishment, the treatment that presented the best results was the use of 2,5% sodium hypochlorite plus activated charcoal. In relation to multiplication, the treatments presented low multiplication rate. In pre-acclimatization and acclimatization the highest percentage of survival occurred when the plastic cover was kept intact around the plant.

**Key words:** Tissue culture, growth regulators, plant propagation.

## 1 INTRODUÇÃO

A propagação de grande parte das espécies florestais é realizada via seminal, principalmente devido à ausência de informações silviculturais, maior facilidade operacional e menores custos iniciais (DIAS et al., 2012).

A propagação do mogno africano (*Khaya ivorensis*) por sementes apresenta impasses como dificuldade da coleta, decorrente do elevado porte arbóreo; perda de viabilidade em curto espaço de tempo; além de apresentarem preço elevado. A micropropagação pode ser usada como uma ferramenta alternativa para a propagação dessa espécie, auxiliando na preservação e produção de material genético de alta qualidade (LAMEIRA et al. 2005).

As técnicas de micropropagação possibilitam a produção em larga escala de indivíduos com características genéticas desejáveis, alto padrão de sanidade das mudas, e em curto espaço de tempo. Além disso, possui enorme relevância quando se deseja multiplicar um genótipo que apresenta características superiores, favorecendo programas de melhoramento genético (PAIVA; GOMES, 2005).

Na micropropagação, as plantas são cultivadas “in vitro” em meios nutritivos e sob condições controladas de luminosidade, temperatura e fotoperíodo (ALMEIDA et al., 2015). A escolha dos meios de cultura e combinações de reguladores de crescimento são essenciais, visto que é o meio de cultura que fornece os nutrientes para o crescimento da planta (SOUZA, 2013). Os principais tipos de reguladores utilizados na micropropagação são as citocininas e auxinas, as quais atuam no crescimento e desenvolvimento do explante (BIELACH et al., 2012).

Segundo dados do Serviço Florestal Brasileiro (2018), no Brasil existem cerca de 7.880 espécies arbóreas, e apesar desse elevado número, as pesquisas no país em relação a micropropagação de espécies florestais é reduzido (COUTO, 2002; OLIVEIRA et al., 2013). Dentre as espécies florestais, a maioria dos estudos estão relacionados a programas de melhoramento genético com espécies do gênero *Eucalyptus* (XAVIER; OTONI, 2009). Em relação ao cultivo “in vitro” de *Khaya ivorensis* existem poucos trabalhos publicados, podendo-se citar Haliza et al. (2014).

No estabelecimento da micropropagação de espécies lenhosas, a introdução de gemas axilares provenientes de plantas oriundas do campo é uma das técnicas mais utilizada e recomendada, pois possibilita a clonagem de materiais selecionados (OLIVEIRA; DIAS; BRONDANI, 2013). No entanto, pode apresentar maiores dificuldades de descontaminação

dos explantes “in vitro” (XAVIER; OTONI; PENCHEL, 2007). Devido às dificuldades de descontaminação de explantes provenientes do campo tem-se preferido a utilização de propágulos oriundos da germinação de sementes em condições assépticas (XAVIER; OTONI; PENCHEL, 2007). A germinação das sementes “in vitro” pode ser utilizada para iniciar a micropropagação em diversas situações, como por exemplo quando a espécie produz poucas sementes ou com produção irregular; quando as sementes são recalcitrantes; e até mesmo quando o custo de obtenção ou aquisição da semente é elevado (MARUYAMA et al., 1989).

As etapas da micropropagação seguem procedimentos padrões, nos quais, inicialmente as sementes ou os explantes oriundos de material vegetal coletado no campo devem ser desinfestados, previamente ao estabelecimento “in vitro” (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009). O estabelecimento “in vitro” é uma etapa determinante no processo de micropropagação, em função de altas taxas de contaminação e oxidação dos tecidos (ALFENAS et al. 2004). Após o estabelecimento “in vitro”, os explantes são multiplicados, alongados, enraizados e por último, aclimatizados em ambiente “ex vitro” (XAVIER; OTONI, 2009).

Vários produtos podem ser utilizados para a desinfestação de explantes, como o etanol 70% e o hipoclorito de sódio, em concentrações variadas (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009). Algumas gotas de detergente são comumente adicionadas às soluções de hipoclorito de sódio para melhorar o contato com os tecidos, reduzindo a tensão superficial da água, e facilitando a ação do tratamento asséptico (OLIVEIRA; DIAS; BRONDANI, 2013).

A oxidação dos explantes pode ser um empecilho a ser superado no decorrer do estabelecimento “in vitro” de espécies lenhosas (SILVA et al., 2007). Em geral, adiciona-se aos meios de cultura substâncias antioxidantes, como ácido cítrico, ácido ascórbico, polivinilpirrolidone (PVP) e carvão ativado (WERNER et al., 2009).

Após o estabelecimento das culturas, os explantes são transferidos para meio de cultura de multiplicação. Nesta fase, o principal objetivo é produzir o maior número de brotos possíveis, no menor tempo (LÉON, 2010). Com relação ao meio de cultura, na fase de multiplicação são utilizadas maiores concentrações de citocininas (ALFENAS et al., 2004), sendo a benzilaminopurina (BAP) uma das mais disponíveis comercialmente e que apresenta os melhores resultados na micropropagação (MOURA et al., 2012).

O desejável é que a multiplicação e o alongamento das brotações ocorram ao mesmo tempo. Quando isso não ocorre, é necessária uma fase de alongamento em meio de cultura próprio, contendo giberelina (GA<sub>3</sub>). Após a multiplicação e o alongamento, as

brotações são induzidas ao enraizamento, subcultivadas em meio contendo auxina, geralmente AIB (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009).

A aclimação é a última etapa do processo de micropropagação, tendo como objetivo a transferência e adaptação dos explantes que se encontram em condições “in vitro” para condições externas. Esta fase é considerada crítica, e podem ocorrer perdas de explantes (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009).

Este trabalho teve como objetivo desenvolver procedimentos de micropropagação de *Khaya ivorensis*, por meio da germinação de sementes “in vitro”, estabelecimento de ápices caulinares obtidos de plantas jovens cultivadas em viveiro, bem como as fases de multiplicação e aclimação.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Caracterização dos ambientes de Cultivo**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Melhoramento Florestal e no Centro Integrado de Propagação de Espécies Florestais (CIPEF), do Departamento de Engenharia Florestal, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), em Diamantina, Minas Gerais.

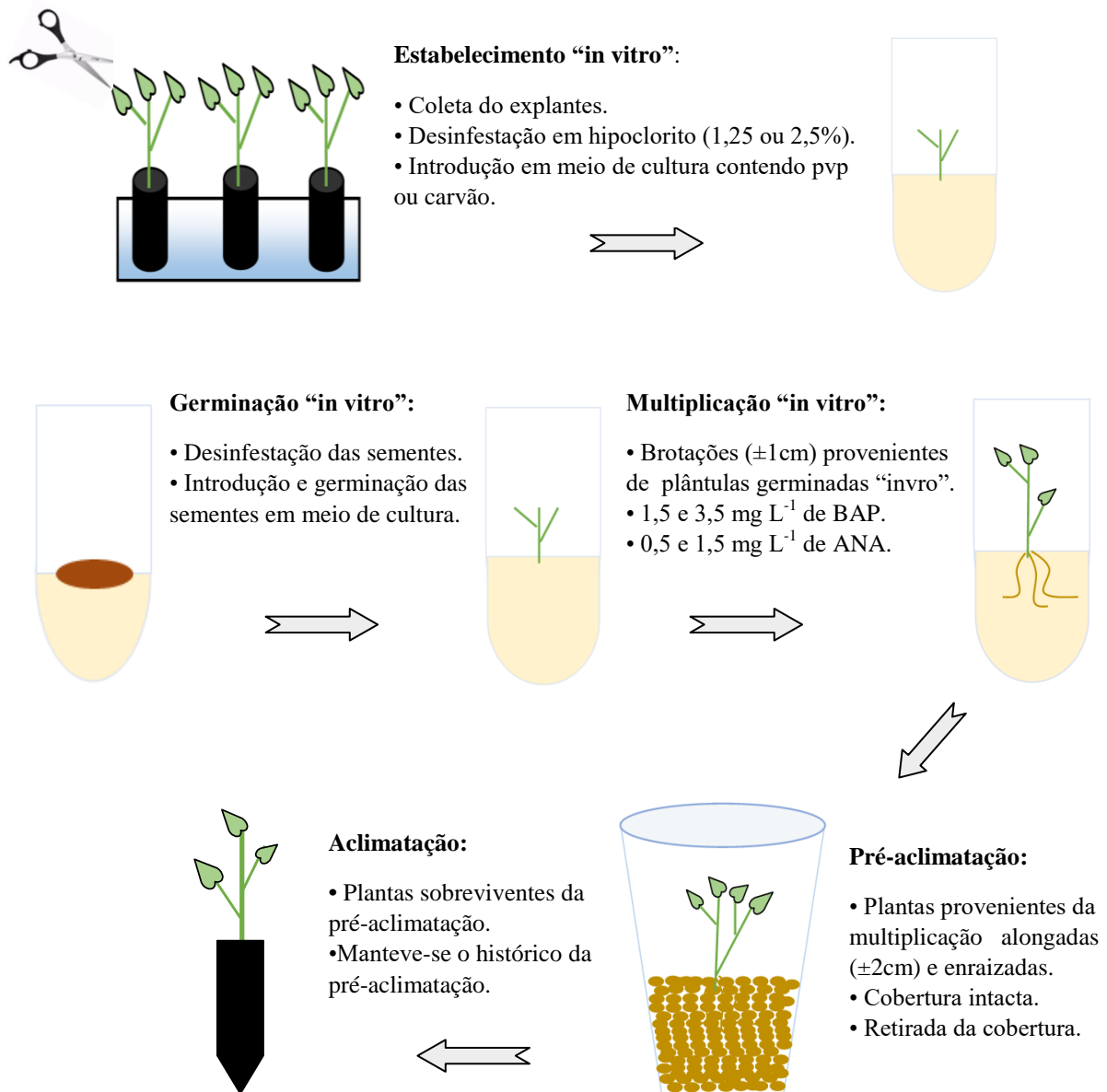
O material botânico da espécie utilizada nos experimentos compõe o banco do herbário Dendrológico Jeanine Felfili, cuja exsicata possui registro HDJF5841.

### **2.2 Esquema do processo de instalação dos experimentos**

Na figura 01 são apresentadas as etapas realizadas na instalação dos experimentos de micropropagação do mogno africano (*Khaya ivorensis*).



**Figura 01-** Procedimentos de micropropagação para o mogno africano (*Khaya ivorensis*).



### 2.3 Estabelecimento “in vitro” de ápices caulinares

A fonte dos propágulos utilizados neste experimento foram obtidos de mudas de mogno africano (*Khaya ivorensis*), com cerca de um ano de idade, produzidas em viveiro via seminal. As sementes foram germinadas em câmara do tipo BOD, e posteriormente transplantadas para tubetes plásticos, com volume de 180 cm<sup>3</sup>, contendo substrato composto por 70% bioplant + 30% vermiculita e 5g L<sup>-1</sup> de Osmocot® (15-9-12) de liberação lenta de seis meses. Como forma de evitar o contato da parte aérea das mudas com a água de irrigação,

os tubetes foram mantidos em bandejas contendo água, visando diminuir a contaminação “in vitro”.

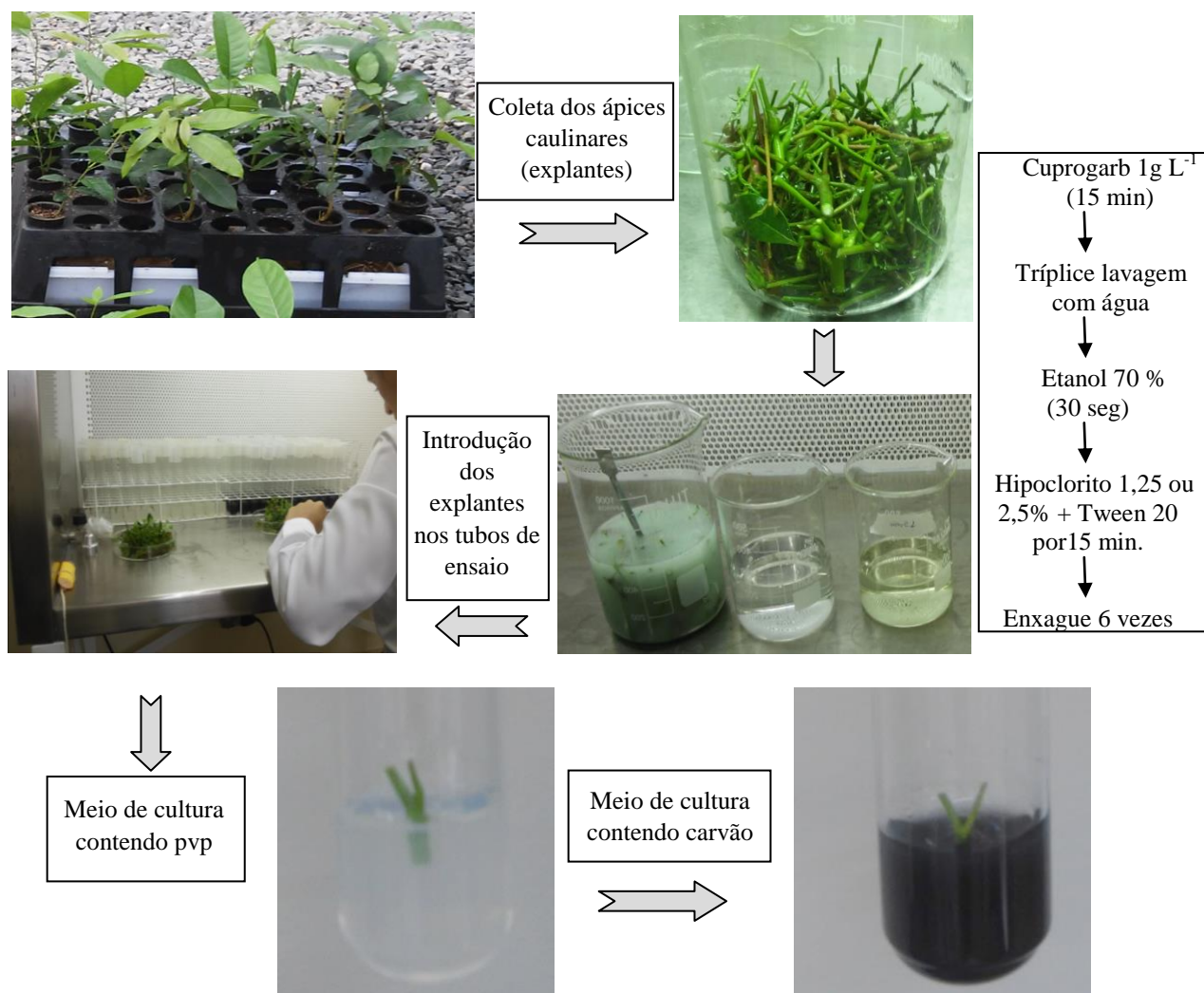
Para atender as necessidades nutricionais das plantas foi realizada uma fertirrigação, onde a solução nutritiva (MALAVOLTA, 1980) era aplicada dentro de cada bandeja, sendo renovada semanalmente. A solução nutritiva continha fosfato de potássio ( $522,11 \text{ mg L}^{-1}$ ), sulfato de magnésio ( $152,12 \text{ mg L}^{-1}$ ), sulfato de amônio ( $111,59 \text{ mg L}^{-1}$ ), nitrato de cálcio ( $441,92 \text{ mg L}^{-1}$ ), fosfato de amônio ( $346,07 \text{ mg L}^{-1}$ ), ureia ( $322,75 \text{ mg L}^{-1}$ ), sulfato de zinco ( $21,99 \text{ mg L}^{-1}$ ), molibdato de sódio ( $0,252 \text{ mg L}^{-1}$ ), sulfato de cobre ( $5,89 \text{ mg L}^{-1}$ ), cloreto de ferro ( $24,20 \text{ mg L}^{-1}$ ) e ácido bórico ( $2,86 \text{ mg L}^{-1}$ ).

Foram coletados ápices caulinares (explantos), com tamanhos entre 1 e 2 cm, e levados posteriormente para o laboratório para a desinfestação. Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram imersos em fungicida Cuprocarb 500<sup>®</sup> ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ), durante 15 minutos, seguido do triplo enxague com água deionizada e autoclavada. Foram então colocados em álcool 70% por 30 segundos, e logo depois em hipoclorito de sódio comercial nas concentrações de 1,25 ou 2,5%, com 4 gotas de Tween 20 a cada 100 ml de solução, por 15 minutos. Foram novamente enxaguados seis vezes em água deionizada e autoclavada para a remoção dos resíduos desinfestantes. Antes de serem introduzidos, os explantes tiveram as folhas retiradas e as bases com o tecido danificado cortados com o auxílio de bisturi.

Os explantes foram introduzidos em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio de cultura MS com 50% da concentração de sais, suplementado com reguladores de crescimento BAP ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ ) e ANA ( $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ );  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose;  $0,1 \text{ g L}^{-1}$  de mio-inositol; e  $6,5 \text{ g L}^{-1}$  de ágar Dinâmica<sup>®</sup>; e conforme os tratamentos adicionou-se carvão ativado ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ) ou PVP ( $0,8 \text{ g L}^{-1}$ ). O pH do meio de cultura foi ajustado para  $5,7 \pm 0,1$ , antes da inclusão do ágar, e em seguida autoclavados por 15 minutos à temperatura de  $121^{\circ}\text{C}$  e pressão de 1 atm.

Após introduzidos, os tubos de ensaio com o material vegetal foram mantidos no escuro, durante sete dias, para redução nos índices de oxidação fenólica “in vitro”. Em seguida, foram transferidos para sala de cultura sob fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  (Figura 02).

**Figura 02-** Esquema do processo de desinfestação de ápices caulinares (explantes) de *Khaya ivorensis*.



O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, em que se combinou concentrações de hipoclorito de sódio com os aditivos carvão ativado e PVP no meio de cultura (Tabela 01), com quatro repetições e 9 explantes por repetição, com um explante por tubo de ensaio. Aos 30 dias após a inoculação, foram avaliadas as porcentagens de contaminação por fungos e bactérias, de oxidação e de explantes responsivos (explantes com brotações axilares maiores que 0,5 cm). Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Bartlett para verificar a homogeneidade de variância e ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a distribuição normal. Os dados de porcentagem de oxidação foram transformados em  $\sqrt{x + 1}$ . Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativa, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de significância com o software R versão 3.0.1 (R CORE TEAM, 2013) utilizando os pacotes ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013).

**Tabela 01-** Tratamentos utilizados no estabelecimento de ápices caulinares de mogno africano (*Khaya ivorensis*).

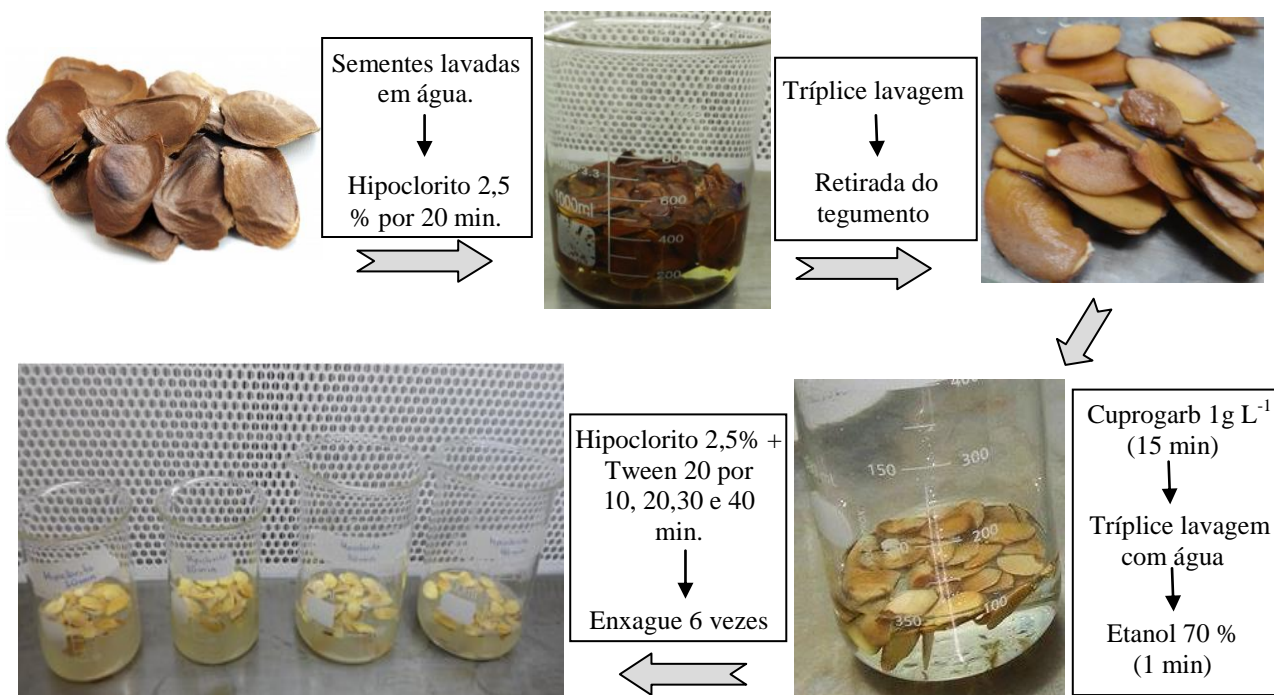
Tratamentos	Concentração de Hipoclorito de sódio (%)	Carvão ativado g L <sup>-1</sup>	PVP g L <sup>-1</sup>
2,5 carvão	2,5	3	0
2,5 PVP	2,5	0	0,8
1,25 carvão	1,25	3	0
1,25 PVP	1,25	0	0,8

## 2.4 Germinação “in vitro” de *Khaya ivorensis* sob tempos de imersão em hipoclorito de sódio

Sementes de *Khaya ivorensis* foram provenientes de um lote adquirido no mercado, sendo armazenadas por 30 dias dentro de caixa de isopor, com o intuito de conservá-las e garantir suas qualidades fisiológicas e sanitárias.

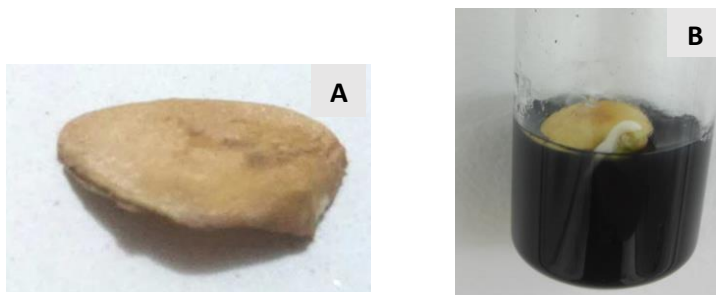
No Laboratório de Melhoramento Florestal, em câmara de fluxo laminar, as sementes com tegumento foram inicialmente lavadas com água deionizada e autoclavada. Em seguida, foram desinfestadas em hipoclorito de sódio comercial, na concentração de 2,5% (v/v), por 20 minutos, e então realizou-se o enxague em água deionizada e autoclavada três vezes. Posteriormente, os tegumentos foram retirados com auxílio de um bisturi, e as sementes imersas em solução de fungicida Cuprocarb 500<sup>®</sup> (1g L<sup>-1</sup>), durante 15 minutos. Novamente fez-se a tríplex lavagem das sementes em água deionizada e autoclavada. Foram então imersas em álcool 70% (v/v) por um minuto, e depois mergulhadas em solução de hipoclorito de sódio na concentração de 2,5% (v/v), com quatro gotas de detergente comercial Twenn 20 a cada 100 ml de solução, pelos períodos de 10, 20, 30 e 40 minutos. E finalmente as sementes foram enxaguadas seis vezes em água deionizada e autoclavada (Figura 03).

**Figura 03-** Esquema do processo de desinfestação de sementes de *Khaya ivorensis*.



Após a desinfestação, as sementes foram colocadas com a concavidade voltada para baixo em tubos de ensaio de 25 x 150 mm, contendo 10 ml de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com 50% dos sais e vitaminas, suplementado com 0,1 g L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 3 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado, e 6,5 g L<sup>-1</sup> de ágar Dinâmica® (Figura 04). O meio de cultura teve o pH ajustado para  $5,7 \pm 0,1$ , antes da inclusão do ágar, sendo autoclavado por 15 minutos à temperatura de 121°C e pressão de 1 atm, e resfriado antes da inoculação do material vegetal. Após a inoculação das sementes, os tubos de ensaio foram fechados com tampas de polietileno e transferidos para a sala de cultura sob fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

**Figura 04-** Sementes de mogno africano (*Khaya ivorensis*). A) Sementes sem tegumento e com a concavidade voltada para baixo. B) Semente introduzida no meio de cultura.



O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, constituído de 4 tratamentos (imersão em hipoclorito de sódio por 10, 20, 30 e 40 minutos), 3 repetições e 10 sementes por repetição, com uma semente por tubo de ensaio. Aos 56 dias, foram avaliadas as porcentagens de germinação, emissão de parte aérea e contaminação. Para obtenção do índice de velocidade de germinação (IVG) (MAGUIRE, 1962) o número de sementes germinadas foi obtido em intervalos de sete dias, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$IVG = \frac{N_1}{D_1} + \frac{N_2}{D_2} \dots \frac{N_n}{D_n}$$

Em que:

$N_1$  = nº de sementes germinadas na primeira contagem

$D_1$  = nº de dias para a primeira contagem

$N_n$  = nº de sementes germinadas na última contagem

$D_n$  = nº de dias para a última contagem

Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram protrusão de raiz primária maior ou igual a 0,2 cm.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Bartlett para verificar a homogeneidade de variância e ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a distribuição normal. Em seguida, procedeu-se a análise de variância, e quando houve diferença significativa, utilizou-se regressão linear ao nível de 5% de significância. Os dados foram analisados com o auxílio do software R versão 3.0.1 (R CORE TEAM, 2013) utilizando os pacotes ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013).

## 2.5 Meios de cultura na germinação “in vitro” de sementes de *Khaya ivorensis*

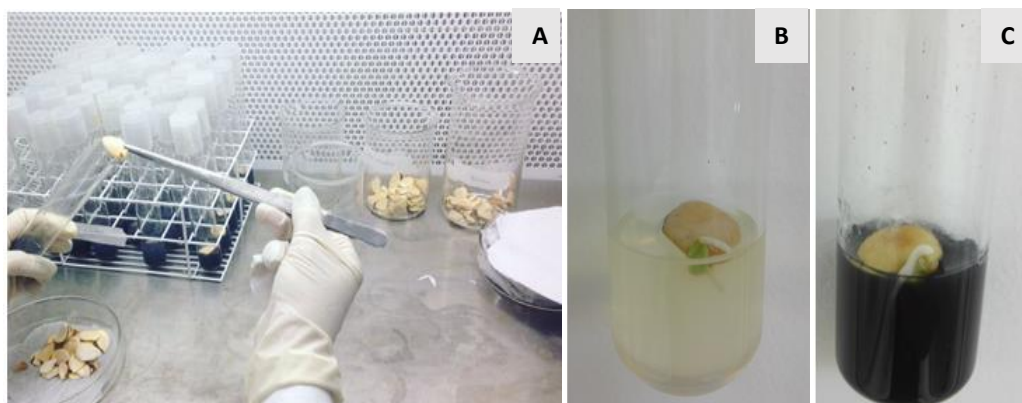
Foram utilizadas sementes de *Khaya ivorensis*, adquiridas comercialmente, armazenadas por 60 dias dentro de caixa de isopor. As sementes foram submetidas ao processo de desinfestação em câmara de fluxo laminar semelhante ao item 2.4, sendo utilizado o tempo de imersão de 20 minutos em hipoclorito de sódio (2,5%).

Após a desinfestação, as sementes foram introduzidas em meio de cultura com 50% dos sais e vitaminas MS e definidos os seguintes tratamentos em função de componentes adicionais: 3 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado e 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose (carvão + sacarose); 3 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado sem adição de sacarose (carvão sem sacarose); 0,8 g L<sup>-1</sup> de PVP e 20 g L<sup>-1</sup> de

sacarose (PVP + sacarose); e 0,8 g L<sup>-1</sup> de PVP sem adição de sacarose (PVP sem sacarose). Todos os meios de culturas foram acrescidos com 0,1 g L<sup>-1</sup> de mio-inositol e 6,5 g L<sup>-1</sup> de ágar Dinâmica®. O pH dos meios foi ajustado para 5,7 ± 0,1, antes da inclusão do ágar, e em seguida autoclavados por 15 minutos à temperatura de 121°C e pressão de 1 atm.

As sementes foram colocadas com a concavidade voltada para baixo, em tubos de ensaio, contendo 10 ml dos diferentes meios de cultura (Figura 05). Após a introdução, as sementes foram mantidas em sala de cultura sob fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de 40 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e temperatura de 25 ± 2 °C.

**Figura 05-** Diferentes meios de cultura. A) Introdução das sementes em tubos de ensaio. B) Meio de cultura contendo PVP. C) Meio de cultura contendo carvão ativado.



O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, quatro repetições e 10 sementes por repetição (uma semente por tubo de ensaio). Aos 49 dias, foram avaliadas as porcentagens de germinação, emissão de parte aérea e contaminação. Para obtenção do índice de velocidade de germinação (IVG) (MAGUIRE, 1962) o número de sementes germinadas foi obtido em intervalos de sete dias, e foi utilizada a seguinte fórmula:

$$IVG = \frac{N_1}{D_1} + \frac{N_2}{D_2} \dots \frac{N_n}{D_n}$$

Em que:

$N_1$  = n° de sementes germinadas na primeira contagem

$D_1$  = n° de dias para a primeira contagem

$N_n$  = n° de sementes germinadas na última contagem

$D_n$  = n° de dias para a última contagem



Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram protrusão de raiz primária maior ou igual a 0,2 cm.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Bartlett para verificar a homogeneidade de variância e ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a distribuição normal. Os dados de porcentagem de contaminação foram transformados em  $\sqrt{x + 1}$ . Em seguida, procedeu-se a análise de variância e, quando significativa, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio do software R versão 3.0.1 (R CORE TEAM, 2013) utilizando os pacotes ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013).

## 2.6 Multiplicação “in vitro”

Foram utilizados como explantes, brotações de aproximadamente 1 cm contendo gemas axilares, provenientes de plântulas germinadas “in vitro” (Figura 06). O meio de cultura básico utilizado foi o MS com 50% dos sais e vitaminas, acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,1 g L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 3 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado e 6,5 g L<sup>-1</sup> de ágar Dinâmica®. Os tratamentos consistiram na adição de diferentes concentrações dos reguladores de crescimento BAP (1,5 e 3 mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0,5 e 1,5 mg L<sup>-1</sup>) no meio de cultura. O meio de cultura teve o pH ajustado para  $5,7 \pm 0,1$ , antes da inclusão do ágar, e foi autoclavado por 15 minutos à temperatura de 121°C e pressão de 1 atm. Os explantes foram colocados em tubos de ensaio contendo 10 ml do meio de cultura previamente preparado e resfriado, e mantidos em sala de cultura sob fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

**Figura 06-** Explante de mogno africano (*Khaya ivorensis*) utilizado na multiplicação “in vitro”.





O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos: T1= 1,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP + 1,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA; T2= 3 mg L<sup>-1</sup> de BAP + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA; e T3= 1,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA, com três repetições e cinco tubos de ensaio por repetição, sendo um explante por tubo. Após 50 dias, foram avaliadas as variáveis: número médio de brotos viáveis por explante, altura média, desenvolvimento de novos primórdios foliares e porcentagem de enraizamento.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Bartlett para verificar a homogeneidade de variância e ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a distribuição normal. Em seguida, foram submetidos à análise de variância a 5% de significância com o software R versão 3.0.1 (R CORE TEAM, 2013) utilizando os pacotes ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013).

## 2.7 Tipos de vedação na pré-aclimatação de plantas propagadas “in vitro”

Foram utilizadas plantas provenientes da multiplicação “in vitro” que apresentavam comprimento maior que 2 cm e enraizadas. Essas foram transplantadas individualmente para copos de polietileno de 300 ml, contendo 10 g do substrato vermiculita. Os copos foram cobertos com plástico de polietileno transparente, visando favorecer a luminosidade e manter a umidade (Figura 07), e levados para sala de cultura sob fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e temperatura de  $25 \pm 2$  °C. Foram realizadas irrigações de 2 em 2 dias, com solução de macro e micronutrientes MS 50%.

**Figura 07-** Pré aclimação de mogno africano (*Khaya ivorensis*) em copos plásticos, cobertos com sacos de polietileno transparente.



Após 10 dias, foram aplicados dois tratamentos: permanência do plástico de polietileno intacto (vedado) e retirada total do plástico (aberto). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com dois tratamentos, três repetições e quatro plantas por repetição.

Foram avaliados a sobrevivência e o aspecto visual das plantas (vigorosa, perda de turgescência e morta), onde essas avaliações ocorreram semanalmente até os 21 dias (Figura 08).

**Figura 08-** Aspecto visual de *Khaya ivorensis*. A) Vigorosa, B) Perda de turgescência, C) Morta.



Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Bartlett para verificar a homogeneidade de variância e ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a distribuição normal. Os dados de porcentagem de sobrevivência foram transformados em  $[\arcsen(\sqrt{x/100})]$ , essa transformação foi necessária para permitir a normalidade dos resíduos. Em seguida, procedeu-se com a análise de variância, e posteriormente, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de significância com o software R versão 3.0.1 (R CORE TEAM, 2013) utilizando os pacotes ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013).

## 2.8 Aclimação “ex vitro” do mogno africano

Após 30 dias de pré-aclimação, as plantas sobreviventes foram transplantadas para tubetes de 180 cm<sup>3</sup> contendo substrato vermiculita, adicionado de 8 g L<sup>-1</sup> de Osmocote® (19-06-10), de liberação de 3 a 4 meses. As plantas foram mantidas em casa de vegetação coberta com filme plástico de 150 microns de espessura e sombrite com redução de 50% da luminosidade, submetidos a irrigações diárias de 30 segundos a cada 20 minutos por nebulização (nebulizador FOGGER com vazão de 7 L/hora).

Durante o processo de aclimação em casa de vegetação, manteve-se o histórico dos tratamentos da pré-aclimação (permanência do plástico de polietileno intacto e retirada total do plástico). Após 21 dias na casa de vegetação foi avaliada a porcentagem de sobrevivência (plantas que apresentavam folhas verdes) e realizada análise descritiva.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Estabelecimento “in vitro” de ápices caulinares

De acordo com a ANOVA, houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos de desinfestação e aditivos no meio de cultura em relação a porcentagem de contaminação e de oxidação dos explantes aos 30 dias (Tabela 04).

**Tabela 02-** Resumo da análise de variância para porcentagem de contaminação (CON), de oxidação (OXI), e de explantes responsivos (ER), aos 30 dias após a inoculação.

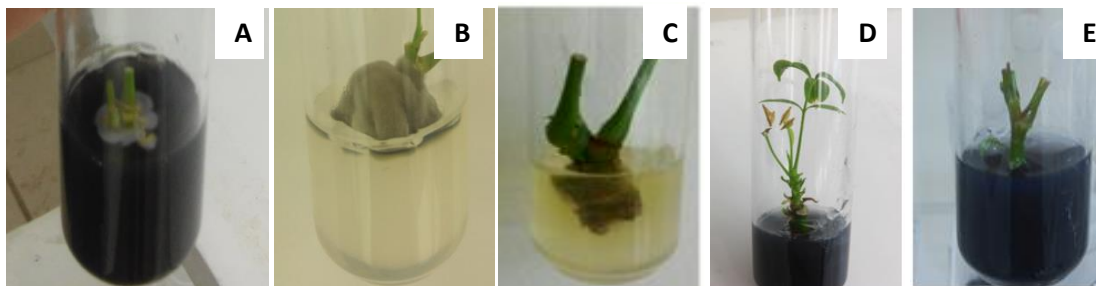
FV	GL	Quadrado Médio		
		CON(%)	OXI <sup>1</sup> (%)	ER(%)
Tratamento	3	501,54*	7,45*	61,73 <sup>ns</sup>
Resíduo	12	115,74	1,01	180,04
CV(%)		22,45	48	32,2

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; CV: Coeficiente de Variação; \* Diferença significativa a 5% de significância; <sup>ns</sup> valor não significativo ao nível de 5% de significância.

<sup>1</sup> Dados transformados em  $\sqrt{x + 1}$

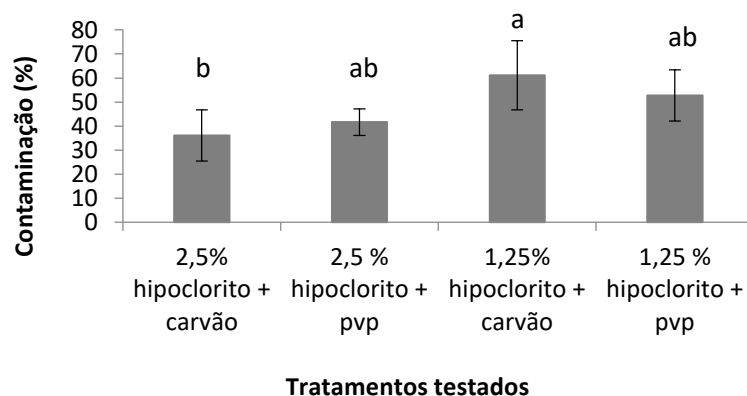
O aspecto dos explantes, com relação às características avaliadas, pode ser observado na Figura 09.

**Figura 09-** Aspecto dos explantes de *Khaya ivorensis*, aos 30 dias após a introdução: (A) explante contaminado por bactérias; (B) explante contaminado por fungo; (C) meio de cultura oxidado; (D) explante responsivo; (E) explante sem resposta.



O tratamento que apresentou maior eficiência para o controle da contaminação foi o hipoclorito de sódio 2,5% acrescido de carvão ativado, apresentando 36% de explantes contaminados (Figura 10). A contaminação por fungo e bactérias é um dos maiores problemas enfrentados na fase inicial de estabelecimento do explante “in vitro”, em especial na superfície dos tecidos de folhas, gemas e segmentos nodais (TEIXEIRA, 2005). O sucesso da assepsia depende do tipo do explante, da idade da planta fornecedora, do tempo de exposição do explante à solução e da concentração da solução desinfestante (DONINI et al., 2005). Baixas concentrações de um agente desinfetante associadas a curtos tempos de imersão beneficiam a sobrevivência dos explantes, porém, essa condição nem sempre promove uma desinfestação satisfatória. No caso inverso, o controle do patógeno pode ser mais eficiente, porém, a viabilidade dos explantes pode ser reduzida, com perdas de material por fitotoxidez (BARRUETO CID; ZIMMERMANN, 2006). Neste trabalho a maior concentração testada de hipoclorito de sódio foi mais eficiente no controle da contaminação e não afetou a sobrevivência dos explantes.

**Figura 10-** Porcentagem de contaminação de ápices caulinares de *Khaya ivorensis* em função dos tratamentos testados aos 30 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. As barras indicam o desvio padrão.



As contaminações por fungos ocorreram em maior proporção, obtendo-se uma média de 40,28%, enquanto que as contaminações por bactérias obtiveram um valor médio de 7,64%. Brondani et al. (2009), em seu trabalho com estabelecimento “in vitro” de clones de *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunii* obtiveram resultados semelhantes com aos do presente estudo, apresentando baixa contaminação por bactérias (média de 9%) e alta contaminação por fungos (média de 41,3%), concluindo que a contaminação fúngica foi o fator que causou a maior perda de material nessa fase da micropropagação, exigindo dessa

maneira tratamentos mais criteriosos, como aplicação de fungicidas nas minicepas antes da coleta das brotações.

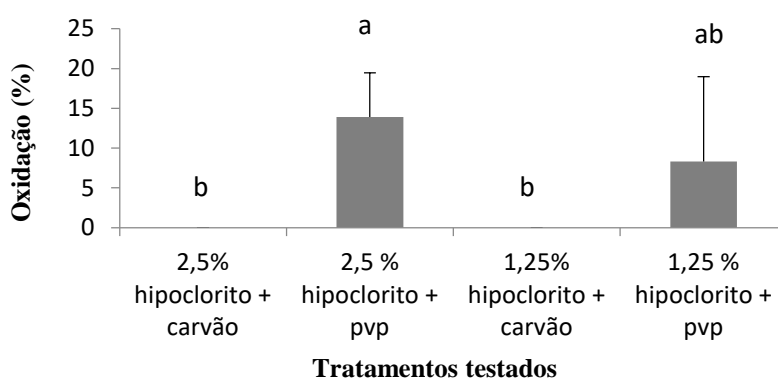
Embora a contaminação por fungos tenha sido alta para a maioria dos tratamentos, ela não afetou a emissão de brotações em alguns explantes, uma vez que foi possível obter brotações viáveis em explantes contaminados por fungos (Figura 11).

**Figura 11-** Explantes de *Khaya ivorensis* contaminados por fungos apresentando brotações viáveis.



Os diferentes tratamentos afetaram significativamente a oxidação dos explantes, sendo que os tratamentos com hipoclorito de sódio 2,5% acrescido de PVP e hipoclorito de sódio 1,25% acrescido de PVP, apresentaram respectivamente médias de 13,9 e 8,3% de oxidação. Nos demais tratamentos não ocorreram oxidação, demonstrando maior eficiência do carvão ativado (Figura 12).

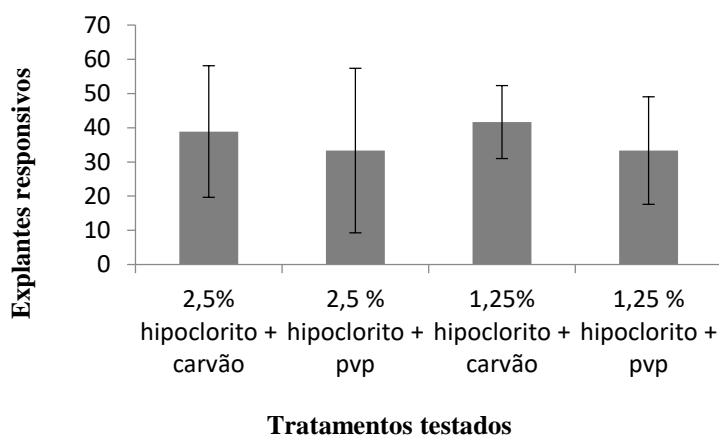
**Figura 12-** Porcentagem de oxidação de ápices caulinares de *Khaya ivorensis* em função dos tratamentos aos 30 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. As barras indicam o desvio padrão.



A oxidação ocorre devido ao corte realizado no explante, este danifica as células dos tecidos, promovendo a liberação de compostos fenólicos precursores da síntese de lignina, modificando o meio de cultura e interferindo na absorção de metabólitos, podendo ocasionar a morte dos tecidos (ANDRADE et al., 2000). A oxidação tem sido um grande problema associado ao isolamento de explantes de espécies lenhosas, uma vez que estas possuem tecidos mais ricos em compostos fenólicos (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Observou-se neste trabalho, que os tratamentos em que foi adicionado carvão ativado não tiveram ocorrência de oxidação. Segundo Thomas (2008), o carvão ativado possui cargas residuais, que são capazes de adsorver substâncias fenólicas ou seus produtos da oxidação, evitando desta maneira o processo de oxidação “in vitro”. Além disso, proporciona um ambiente onde os explantes não ficam expostos a luz, quando recém introduzidos (FAGUNDES et al., 2017). Porém é importante salientar que o carvão ativado, além de atuar como antioxidante promove a adsorção de outras substâncias do meio nutritivo, por exemplo, os reguladores de crescimento, desta maneira o aumento da sua concentração pode ser prejudicial, acarretando efeitos indesejáveis ao cultivo “in vitro” (GALDIANO JÚNIOR et al., 2010).

Embora não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos, as maiores médias absolutas de explantes com brotações ocorreram com a utilização de 1,25% hipoclorito de sódio + carvão e 2,5% hipoclorito de sódio + carvão, apresentando respectivamente 42 e 39% (Figura 13). Os demais explantes que não contaminaram e não emitiram brotações continuaram vivos, uma vez que mantiveram a coloração verde.

**Figura 13-** Porcentagem de explantes responsivos de *Khaya ivorensis* em função dos tratamentos, aos 30 dias. As barras indicam o desvio padrão.



Para que se obtenha sucesso na micropropagação necessita-se que apenas alguns explantes emitam brotações livres de contaminantes. Entretanto, quando se necessita de grande quantidade de material micropropagado, maiores taxas de explantes com brotações podem ser necessárias para aumentar de forma mais rápida a quantidade de material produzido (SHARMA; RAMAMURTHY, 2000). Segundo Borges et al. (2012), os resultados para explantes responsivos na fase de estabelecimento “in vitro” variam em função do material vegetal e das condições de cultivo.

Em geral, neste experimento o tratamento que apresentou os melhores resultados em relação ao conjunto de variáveis analisadas, menor porcentagem de contaminação e oxidação, juntamente com o segundo maior índice de explantes responsivos, foi à utilização de hipoclorito de sódio 2,5% acrescido de carvão ativo.

### 3.2 Germinação “in vitro” de *Khaya ivorensis* sob tempos de imersão em hipoclorito de sódio

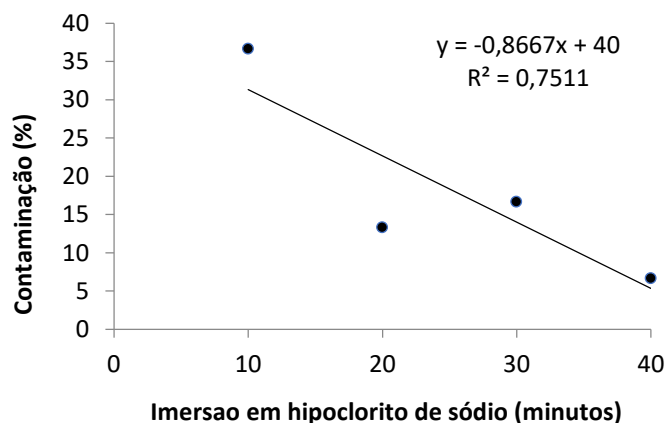
De acordo com a análise de variância (Tabela 03), houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos de desinfestação das sementes de mogno africano em relação à porcentagem de contaminação, aos 56 dias. Observou-se que com o aumento do tempo de imersão em hipoclorito de sódio houve redução linear da contaminação (Figura 14).

**Tabela 03-** Resumo da análise de variância para porcentagem de contaminação (CON), porcentagem de germinação (G), porcentagem de emissão de parte aérea (PA), e índice de velocidade de germinação (IVG) aos 56 dias, para a semente de mogno africano.

FV	GL	Quadrado Médio			
		CON(%)	G(%)	PA(%)	IVG
Tratamento	3	500,00*	141,667 <sup>ns</sup>	266,22 <sup>ns</sup>	0,019 <sup>ns</sup>
Resíduo	8	108,33	83,33	185,52	0,018
CV(%)		56,77	12,04	61,1	24,87

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; CV: Coeficiente de Variação; \* Diferença significativa a 5% de significância; <sup>ns</sup>: valor não significativo ao nível de 5% de significância.

**Figura 14-** Porcentagem de contaminação de sementes de *Khaya ivorensis*, aos 56 dias de cultivo “in vitro”, em diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio a 2,5%.



O tratamento 10 minutos de imersão em hipoclorito de sódio obteve uma média de 37% de sementes contaminadas. Com o aumento no tempo de imersão no agente desinfestante para 20, 30 e 40 minutos atingiu-se uma redução na contaminação de 13, 16 e 7% respectivamente. Esse resultado indica a eficiência do hipoclorito de sódio no controle de contaminações das sementes *Khaya ivorensis* “in vitro”. Segundo Domini et al. (2005), o mecanismo de ação do cloro ativo não é bem conhecido, embora algumas hipóteses consideram que pode haver uma combinação do cloro com proteínas da membrana celular dos microrganismos, formando dessa maneira compostos tóxicos e levando à inibição de enzimas essenciais. Os fatores como concentração do agente esterilizante e tempo de exposição do explante ao mesmo contribuem para o sucesso da desinfestação.

O resultado deste estudo está de acordo com Couto et al. (2004), onde em seu trabalho com desinfestação de sementes de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) em hipoclorito de sódio 2,5%, durante os tempos de 30 e 40 minutos, obtiveram taxa de contaminação de 14,29%.

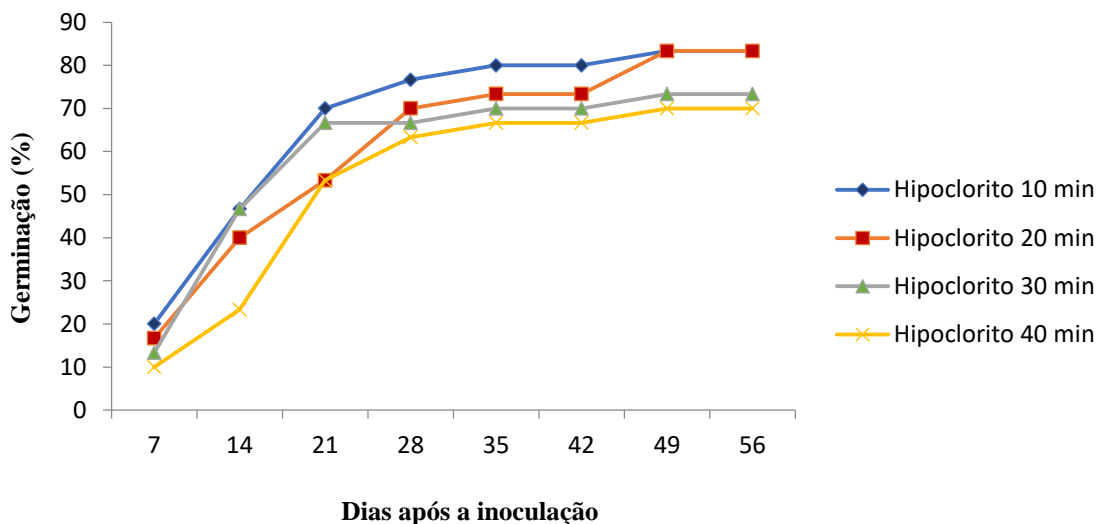
Observou-se, durante o período da germinação, que algumas sementes que apresentavam contaminação por fungo conseguiram germinar, mostrando que estes microrganismos não atuaram como fator limitante desse processo. Kalil Filho et al. (2000), também obtiveram germinação de *Swietenia macrophylla* em sementes contaminadas, sendo que observaram 100% da capacidade de germinação, mesmo quando as sementes apresentavam 11,8% de contaminação por fungos e bactérias.

A germinação “in vitro” de *Khaya ivorensis* ocorreu em todos os tratamentos, iniciando-se sete dias após a introdução das sementes (Figura 15). Fernandes (2015) observou para o mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla*) germinação rápida, iniciando-se após cinco



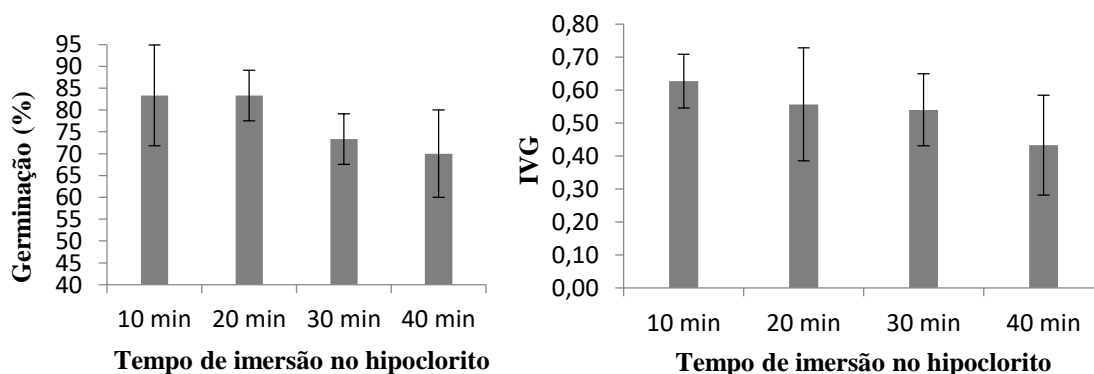
dias após a introdução “in vitro” das sementes. Pela análise de variância (Tabela 03), não houve diferença significativa entre os diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio para a porcentagem de germinação e para o índice de velocidade de germinação (IVG), aos 56 dias.

**Figura 15-** Curva da porcentagem de germinação de sementes de *Khaya ivorensis* em função dos diferentes tempos de imersão no hipoclorito de sódio durante 56 dias.



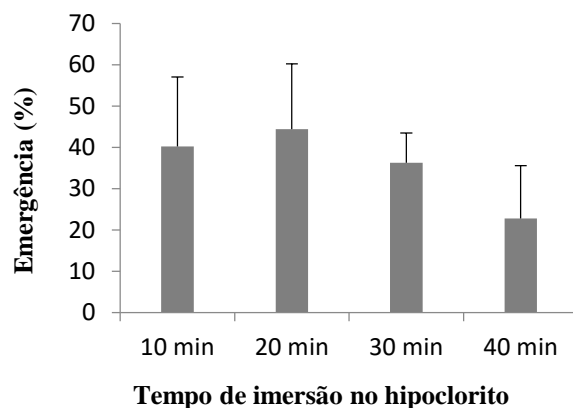
Apesar de não haver diferenças significativas, a maior porcentagem absoluta de germinação ocorreu nos tratamentos de 10 e 20 minutos de imersão no hipoclorito de sódio apresentando 83% de germinação, seguidos dos tratamentos 30 e 40 minutos, com médias de porcentagem de germinação de 73 e 70% respectivamente. Para o IVG, o maior valor foi obtido no tratamento 10 minutos no hipoclorito de sódio (0,63), seguido pelos tratamentos de 20 e 30 minutos com os valores de 0,56 e 0,54 respectivamente, e o tratamento 40 minutos com o valor de 0,43 (Figura 16).

**Figura 16-** Porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Khaya ivorensis* em diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio, aos 56 dias. As barras indicam o desvio padrão.



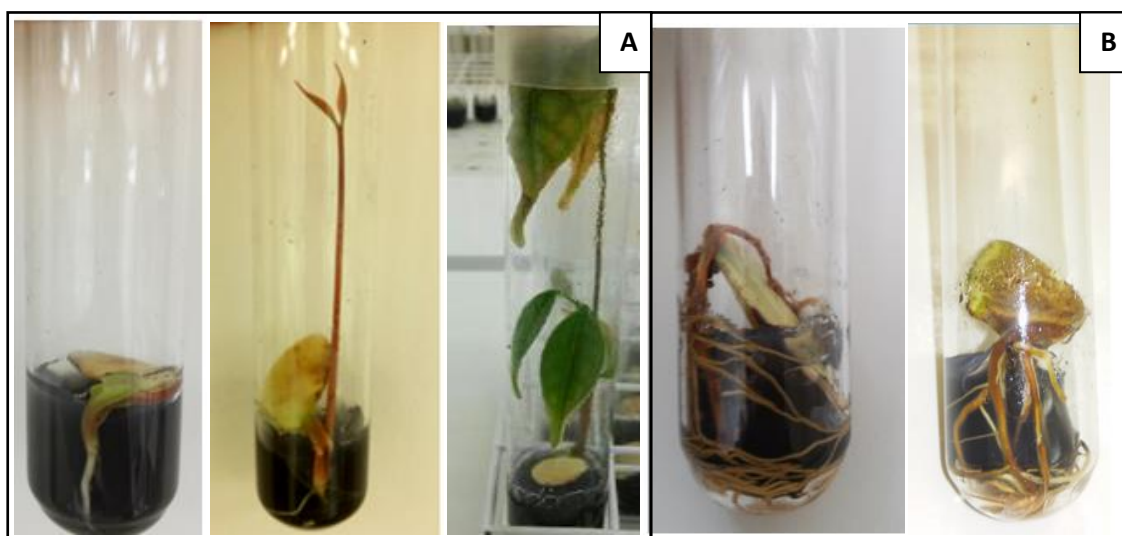
Apesar da elevada taxa de germinação, que variou de 70 a 83% nos diferentes tratamentos, obteve-se baixa taxa de emergência destas sementes germinadas (Figura 17). Nos tratamentos 10, 20, 30 e 40 minutos de imersão no hipoclorito de sódio obteve-se respectivamente 40, 44, 36 e 22% de sementes com desenvolvimento da parte aérea.

**Figura 17-** Porcentagem de emergência de sementes de *Khaya ivorensis* em diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio, aos 56 dias. As barras indicam o desvio padrão.



As sementes germinadas que não desenvolveram parte aérea começaram a desenvolver muitas raízes, e consequentemente não houve a formação de plântulas (Figura 18).

**Figura 18-** Germinação de sementes de *Khaya ivorensis*. A) Germinação normal das sementes com formação de plântula. B) Germinação com formação de muitas raízes sem o desenvolvimento da parte aérea.



Uma provável explicação para a emissão de apenas raízes pode estar relacionada com o potencial osmótico do meio de cultura, que pode interferir na absorção de água pela semente. Segundo Kerbauy (2008), a água é considerada um dos fatores mais importantes na germinação, estando envolvida em todas as etapas do crescimento da planta. Sua absorção ocorre em virtude do potencial hídrico entre o interior da semente e o meio onde ela se encontra. George (1996) explica que a adição de componentes ao meio de cultura, especialmente macronutrientes e fontes de carbono como a sacarose, podem reduzir o potencial osmótico do meio, ocasionando menor disponibilidade de água, interferindo no processo de embebição da semente, reduzindo o vigor e a germinação. Da mesma maneira que o potencial osmótico interfere na germinação das sementes, ele também pode interferir na diferenciação celular, influenciando no crescimento vegetal, podendo dessa maneira induzir a formação de plântulas anormais (NOGUEIRA, 2012). Plântulas anormais seriam aquelas que não mostraram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, com protrusão da radícula e/ou formação de raízes sem desenvolvimento da parte aérea (BRASIL, 2009).

Com base nos resultados deste experimento, o tratamento mais adequado para a assepsia de sementes de mogno africano, apresentando os melhores resultados para o conjunto de variáveis analisadas foi a desinfestação em hipoclorito de sódio 2,5% por 20 minutos, obtendo uma taxa satisfatória de germinação (83%), e baixa contaminação (13%).

### 3.3 Meios de cultura na germinação “in vitro” de sementes de *Khaya ivorensis*

Na tabela 04 é apresentado o resumo da análise de variância para os dados de contaminação, germinação, emissão de parte aérea e IVG, aos 49 dias, ocorrendo diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para a germinação, contaminação e IVG.

**Tabela 04-** Resumo da análise de variância para porcentagem de contaminação (CON), porcentagem de germinação (G), porcentagem de emissão de parte aérea (PA), e índice de velocidade de germinação (IVG), aos 49 dias, para a semente de mogno africano.

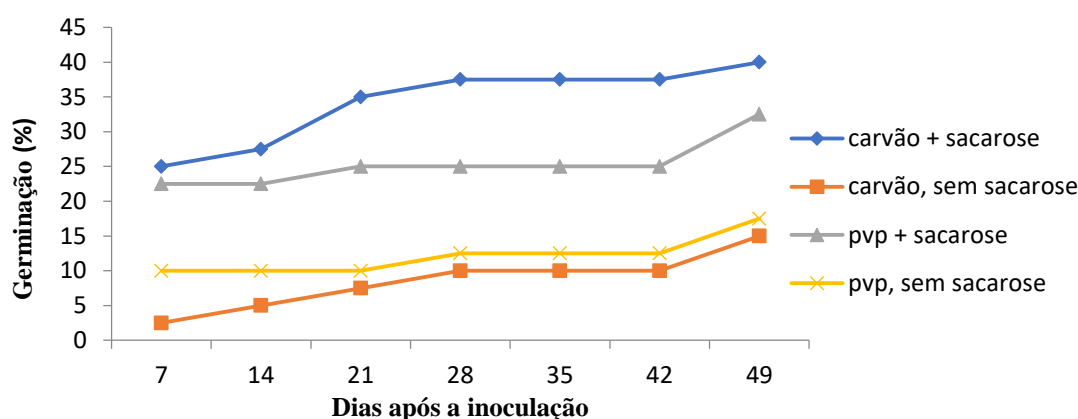
FV	GL	Quadrado Médio			
		CON <sup>1</sup> (%)	G(%)	PA(%)	IVG
Tratamento	3	9,86*	575,00*	1116,84 <sup>ns</sup>	0,11*
Resíduos	12	1,76	120,83	864,06	0,02
CV(%)		34,57	41,88	93,13	48,91

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; CV: Coeficiente de Variação; \* Diferença significativa a 5% de significância; <sup>ns</sup> valor não significativo ao nível de 5% de significância.

<sup>1</sup> Dados transformados em  $\sqrt{x + 1}$

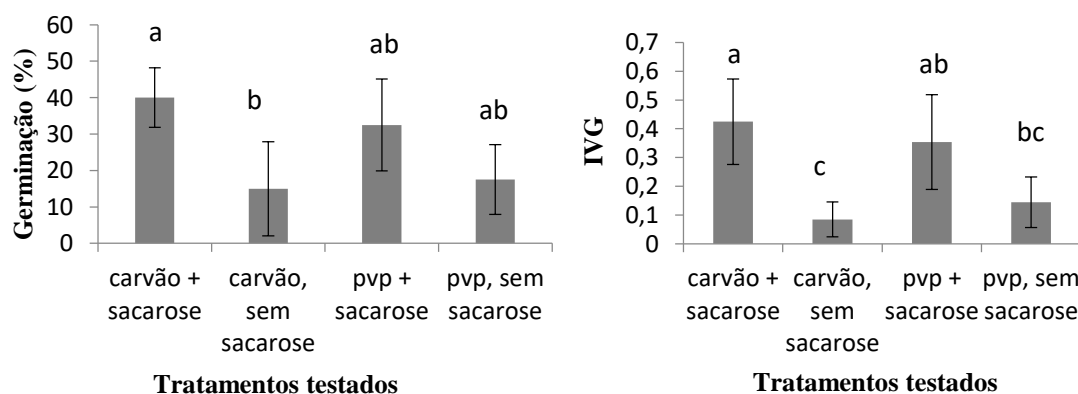
A germinação das sementes iniciou-se sete dias após a introdução para todos os tratamentos (Figura 19). Os tratamentos com os meios de cultura carvão + sacarose e pvp + sacarose foram os que apresentaram as maiores taxas de germinação. Em seu trabalho com o mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla*), Lameira et al. (2006) também observaram o processo de germinação *in vitro* iniciando a partir de seis dias, e consideraram a germinação como rápida, uma vez que algumas sementes de espécies florestais necessitam de até cinco meses para entrar em atividade metabólica.

**Figura 19-** Curva da porcentagem de germinação de sementes de *Khaya ivorensis* em função dos diferentes meios de cultura durante 49 dias.



Para a porcentagem final de germinação e IVG aos 49 dias, os tratamentos apresentaram efeito significativo ao nível de 5% pelo teste de Tukey (Figura 20). A maior porcentagem de germinação (40%) e IVG (0,43) ocorreram com o uso do meio de cultura constituído por carvão ativado + sacarose, sendo que este não diferiu dos tratamentos pvp+sacarose e pvp sem sacarose.

**Figura 20-** Porcentagem de sementes germinadas e IVG de *Khaya ivorensis* em diferentes meio de cultura, aos 49 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. As barras indicam o desvio padrão.



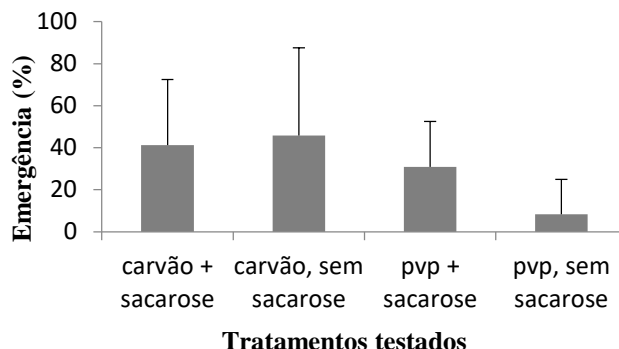
A utilização de 3 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado e 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose promoveram aumento da taxa de germinação. A adição de carvão ativado no meio de cultura adsorve substâncias inibitórias como compostos fenólicos, ácido abscísico (ABA) e etileno exsudado pelo embrião zigótico no decorrer do cultivo “in vitro”. Desta maneira, tem-se o sequestro de toxinas produzidas no ambiente “in vitro”, que podem prejudicar a germinação do embrião e sua posterior conversão em plântulas (PAN; STADEN, 1998). Além disso, o escurecimento do meio de cultura favorece a indução de raízes (CHERUVATHUR et al., 2010), pela redução da incidência de luz na zona de crescimento ativo do sistema radicular (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Moura et al. (2014) também encontraram os maiores percentuais de germinação de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth) com o uso de carvão ativado combinado com o meio de cultura MS.

Durante o cultivo “in vitro”, soluções de sais e açúcares que compõem o meio de cultura não exercem apenas efeito nutritivo, mas também afetam o crescimento celular e a morfogênese por meio de propriedades osmóticas (GEORGE, 1996). O excesso de açúcares como a sacarose, pode ocasionar efeitos como a diminuição da absorção de água, sais minerais, interferindo assim no crescimento da plântula (BESSON et al. 2010). Neste trabalho a adição de sacarose favoreceu a germinação das sementes. Provavelmente a redução de 50% dos sais do meio MS compensou a adição de sacarose, não afetando, assim, o balanço osmótico para a germinação. Resultados semelhantes foram encontrados por Nogueira et al. (2004), trabalhando com murici-pequeno (*Byrsonima intermedia*), e Costa et al. (2017) com a espécie pau-de-balsa (*Ochroma pyramidale*).

De um modo geral, a germinação deste experimento foi considerada baixa, sendo que um dos fatores que podem ter interferido na germinação foi o tempo de armazenamento de 60 dias. Segundo Pinheiro et al. (2011), a capacidade germinativa das sementes de mogno africano recém coletadas alcança, em média, 75 a 90%, e quando armazenadas à temperatura ambiente, em dois a três meses o índice de capacidade germinativa começa a diminuir.

Para a porcentagem de emergência das sementes germinadas aos 49 dias, estas não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. No geral apresentaram uma baixa emissão de parte aérea (Figura 21), sendo os meios de cultura contendo carvão ativado os que apresentaram maiores valores absolutos para emissões.

**Figura 21-** Porcentagem de emergência das sementes germinadas de *Khaya ivorensis* em diferentes meio de cultura, aos 49 dias. As barras indicam o desvio padrão.



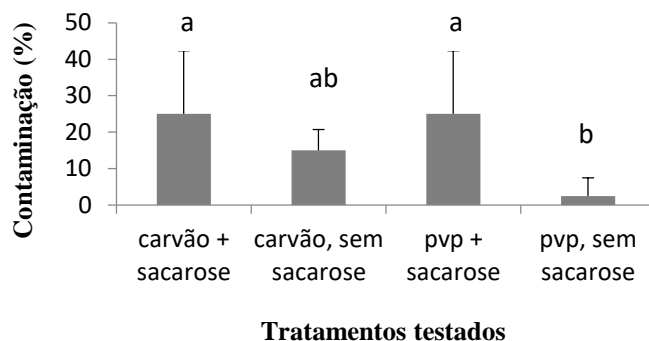
Na germinação “in vitro”, é importante que se tenha um processo de desinfestação eficiente das sementes, e que se utilize um meio de cultura com concentrações salinas que influencie positivamente nos processos de germinação e desenvolvimento das plântulas. Observa-se que a suplementação do meio com carvão ativado apresentou os melhores resultados para a emergência das sementes, de acordo com o Ribeiro et al. (2000), o carvão por absorver substâncias inibitórias ou tóxicas do meio, pode promover o desenvolvimento e crescimento dos embriões.

As sementes germinadas alcançaram média geral de 31% de emergência. Essa baixa conversão em plântulas provavelmente está relacionada com a desidratação dos tecidos após o início da germinação devido ao potencial osmótico do meio de cultura.

Souza et al. (2003) ao estudarem a germinação “in vitro” da arnica (*Lychnophora pinaster* Mart), verificaram que meios menos concentrados permitem melhor germinação dos embriões e melhor desenvolvimento da parte aérea. Além disso, Bertozzo e Machado (2010), afirmam que espécies lenhosas apresentam melhor desempenho com a redução de macronutrientes no meio de cultura. Desta maneira, uma possível alternativa para aumentar a porcentagem de emergência das sementes de *Khaya ivorensis*, além da redução da sacarose, seria testar o meio MS em solução mais diluída, ou o meio nutritivo WPM – *Wood Plant Medium* (LLOYD; MCCOWN, 1981) em diferentes concentrações, sendo que este segundo Pasqual (2001), já apresenta 25% das concentrações de íons nitrato e amônia do meio MS, sendo amplamente utilizado para a micropropagação de espécies lenhosas.

A variável porcentagem de contaminação foi influenciada significativamente pelos diferentes tratamentos testados (Figura 22), sendo que os tratamentos com adição de sacarose foram os que apresentaram as maiores porcentagem de contaminação (25%).

**Figura 22-** Porcentagem de contaminação de sementes de *Khaya ivorensis* em diferentes meio de cultura, aos 49 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. As barras indicam o desvio padrão.



A adição de sacarose no meio de cultura apresenta vantagens, como participação no fornecimento de energia ou como fonte de carboidrato para os processos de diferenciação celular (SOARES et al., 2011). No entanto, pode beneficiar o desenvolvimento de fungos e bactérias, aumentando dessa forma a taxa de contaminação, interferindo negativamente na sobrevivência e no desenvolvimento das plântulas (SOUZA et al., 2007), fato este, observado para *Khaya ivorensis* no presente estudo. A redução da sacarose no meio de cultivo, além de reduzir os riscos de contaminação microbiana, também melhora capacidade fotossintética, facilitando a aclimatização destas às condições “ex vitro” (DIGNART, 2006).

A utilização do meio de cultura com suplementação favorece a germinação “in vitro” e o desenvolvimento de plântulas com potencial fisiológico para serem utilizadas como fontes de explantes. Desta maneira, muitas vezes é necessário testar diferentes meios de cultura, com modificações e suplementações variadas para se obter um bom resultado (VEDOVATO, 2011). Neste trabalho, o tratamento que obteve os melhores resultados foi o meio de cultura contendo carvão ativado + sacarose, obtendo maiores taxas de germinação (40%) e IVG (0,43). Porém, diante das baixas taxas de formação de plântulas encontradas, futuros estudos de germinação “in vitro” de mogno africano devem ser desenvolvidos, observando-se, o tempo de armazenamento das sementes e testando outras concentrações de sacarose e diluições do meio de cultura, visando obter uma quantidade maior de plântulas com parte aérea bem desenvolvida.

### 3.4 Multiplicação “in vitro”

Não houve diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos testados na multiplicação de explantes do mogno africano (Tabela 05).

**Tabela 05-** Resumo da análise de variância para número médio de brotos viáveis (BROT), altura média (h), porcentagem de enraizamento (ENR), e número médio de folhas (FOL) aos 50 dias.

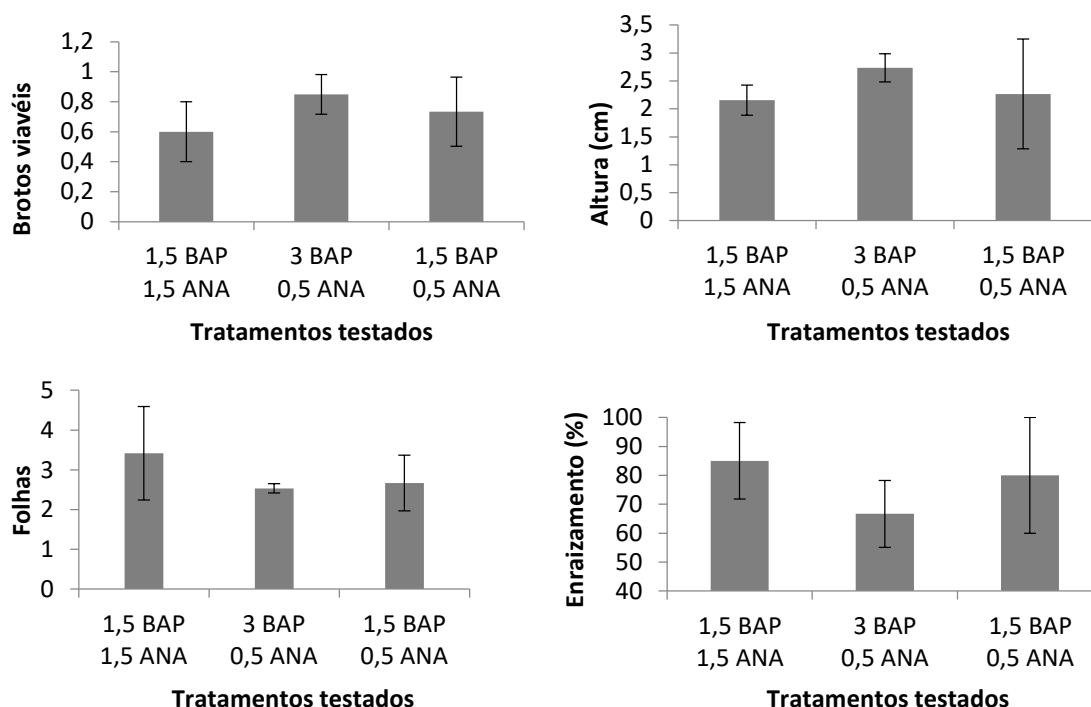
FV	GL	Quadrado Médio			
		BROT	h	ENR	FOL
Tratamento	3	0,047 <sup>ns</sup>	0,281 <sup>ns</sup>	269,44 <sup>ns</sup>	0,680 <sup>ns</sup>
Resíduo	12	0,037	0,366	236,11	0,629
CV(%)		26,41	25,36	19,9	27,62

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; CV: Coeficiente de Variação; <sup>ns</sup> valor não significativo ao nível de 5% de significância.

Os resultados obtidos demonstram baixa taxa de multiplicação “in vitro” de mogno africano, com média de 0,70 brotos viáveis por explante. Na Figura 23 é possível observar que mesmo não havendo diferença significativa o T2 (3 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA) apresentou uma média de brotos e altura maior que os tratamentos T1 (1,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 1,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA) e T3 (1,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA), o que pode indicar uma tendência de maior produção de brotos com o aumento BAP em relação ao ANA, demonstrando a necessidade de outros estudos com concentrações maiores de BAP visando aumentar a taxa de multiplicação da espécie. É importante destacar que, os resultados obtidos são referentes a um único subcultivo, desta maneira essa taxa de multiplicação poderia aumentar em subcultivos sucessivos.



**Figura 23-** Número médio de brotos viáveis, altura, número de folhas formados em explantes e porcentagem de enraizamento na fase de multiplicação “in vitro” aos 50 dias. As barras indicam o desvio padrão.



De acordo com Vieira e Monteiro (2002), as citocininas são responsáveis por estimular o desenvolvimento de porções de tecido meristemático, ou seja, das gemas axilares, desencadeando o crescimento e divisões celulares que resultam no surgimento de uma brotação. Dentre os reguladores de crescimento o 6-benzilaminopurina (BAP) corresponde a citocinina mais utilizada nos trabalhos de multiplicação “in vitro” de espécies florestais, sendo seu uso muitas vezes combinado com o ácido naftalenoacético (ANA), uma auxina sintética (OLIVEIRA et al., 2013). LAMEIRA et al. (2005) estudando combinações de BAP e ANA para a multiplicação “in vitro” de segmento apical do mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla*) encontrou que o tratamento mais eficiente foi a combinação da concentração 3 mg L<sup>-1</sup> de BAP com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA produzindo, em média, 2,7 brotos/explante, e o tratamento menos eficiente foi a combinação 1 mg L<sup>-1</sup> BAP com 0,5 mg L<sup>-1</sup> ANA e 3 mg L<sup>-1</sup> BAP na ausência de ANA. Esse autor acredita que o surgimento de menor número de brotações ocorreu devido ao fato da plântula do mogno brasileiro quando emergida apresentar poucas gemas foliares, muito próximas umas das outras, e com um epicótilo fino na zona apical. Esse fato também pode ter ocorrido com o mogno africano explicando assim sua baixa multiplicação.

Para Fermino Junior e Pereira (2012), além dos reguladores de crescimento o meio de cultura também afeta a micropropagação, afirmando que em espécies lenhosas, o

meio MS não se mostra satisfatório para a multiplicação em alguns casos, pois composições mais diluídas em macronutrientes como o meio WPM apresentam melhor desempenho. Já Souza (2013) trabalhando com o mogno africano (*Khaya senegalensis*) obteve melhores resultados com meio MS com concentrações de 0,5 e 1 mg L<sup>-1</sup> de BAP diferindo de forma positiva e significativa dos tratamentos com WPM para multiplicação. Rocha et al. (2007), testando a multiplicação “in vitro” da Meliaceae *Cabralea canjerana*, encontraram que o meio de cultura MS apresentou melhores resultados (1,77 brotos) quando comparado ao meio WPM (1,12 brotos).

No presente experimento, foi observada a formação de estruturas semelhantes a calos de coloração branca na face abaxial das folhas de alguns explantes (Figura 24). Quisen (2007) também verificou a ocorrência dessas estruturas na fase de multiplicação “in vitro” de *Eucalyptus camaldulensis*, relatando que esses calos ocorreram em brotações individualizadas, subcultivados após estarem mais de 30 dias em cultura. Gaspar et al. (2002) explicam que o aparecimento de calos em culturas “in vitro” está associado ao estresse em nível celular, seja este ocasionado pela umidade no ambiente, como também em respostas às alterações no metabolismo e desenvolvimento da cultura. Borges (2009) também encontrou essas estruturas em seu estudo com *Eucalyptus globulus*, sendo com maior frequência nos primeiros subcultivos, quando as plantas estariam passando pela etapa de adaptação.

**Figura 24-** Presença de calos na superfície abaxial das folhas de *Khaya ivorensis*



Verificou-se nessa fase de multiplicação a presença de raízes em mais de 70% dos explantes em todos os tratamentos. Essa alta taxa de enraizamento pode ser explicada devido ao material utilizado ser jovem, possuindo desta maneira maior facilidade para o

enraizamento. Além disso, os explantes apresentavam folhas, o que segundo Pacheco e Franco (2008) devido às folhas serem locais de síntese de auxina e carboidratos, sua presença favorece a sobrevivência e a formação de raízes, uma vez que se tem um aumento da auxina endógena. Outro fator que pode ter favorecido o enraizamento nesta fase foi o uso do meio de cultura contendo carvão ativado, pois, segundo Figueiredo (2017), o carvão possui efeitos estimulantes, reduzindo a intensidade luminosa na base dos brotos, proporcionando um acúmulo de auxinas, cofatores ou ambos, e simulando uma situação de escuro, que favorece o enraizamento.

De modo geral, além de enraizados, os explantes também se apresentaram alongados, o que proporcionou que os mesmos fossem posteriormente aclimatados, sem a necessidade de uma fase de alongamento e enraizamento “in vitro”. Segundo Grattapaglia e Machado (1998), as brotações obtidas na fase de multiplicação normalmente são pequenas e não podem dessa maneira serem individualizadas para o enraizamento, necessitando do uso de regulador vegetal que promova o alongamento da parte aérea dessas brotações. O aumento em altura de mudas provenientes do cultivo “in vitro” é de interesse prático, uma vez que em razão do seu porte restrito, o manuseio se torna difícil, além de prolongar o tempo para a produção comercial da muda (HOFFMANN et al., 2002). Segundo Fukuda (2011) esse alongamento dos explantes indica que o padrão de multiplicação da espécie pode não ser a produção de grande número de brotos, mas sim produzir brotos longos que poderiam ser excisados em dois ou mais explantes, aumentando dessa maneira a taxa de multiplicação. Sugere-se que novos experimentos sejam realizados utilizando este padrão, contabilizando a multiplicação dos explantes produzidos por broto, e avaliando seu desenvolvimento. Na Figura 25 é apresentado o aspecto morfológico do broto multiplicado nos tratamentos testados.

**Figura 25-** Aspecto dos brotos de *Khaya ivorensis*, durante a fase de multiplicação.



Em alguns explantes, observou-se que aos 50 dias de cultivo, houve perda no vigor vegetativo, exibindo algumas folhas amareladas, ocasionado provavelmente, pela falta de nutrientes no meio de cultura, demonstrando que o intervalo entre subcultivos para essa espécie deveria ser inferior a esse período (Figura 26). Segundo Grattapaglia e Machado (1990), antes da ocorrência da queda de vigor deve ser realizada uma nova repicagem, uma vez que a frequência ideal de subcultivos é aquela em que as plantas são repicadas durante a fase de crescimento ativo das partes aéreas, associando o máximo vigor de crescimento das culturas à máxima taxa de multiplicação.

**Figura 26-** Folhas amareladas aos 50 dias na multiplicação “in vitro” de *Khaya ivorensis*.

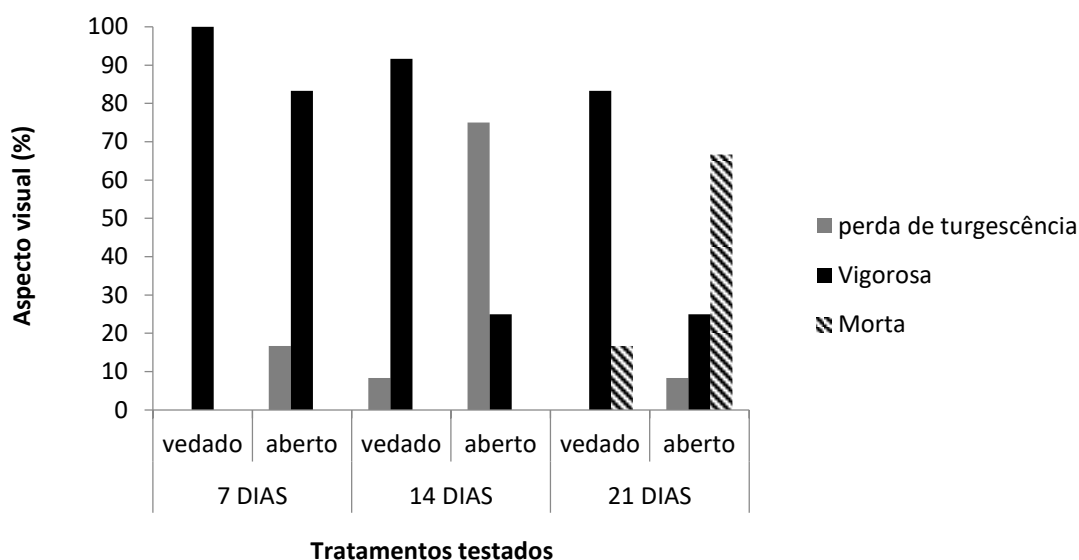


### 3.5 Tipos de vedação na pré-aclimatação de plantas propagadas “in vitro”

Durante o período de pré-aclimatação em copos de polietileno, observou-se que no tratamento em que se fez a retirada da cobertura plástica (aberto) ocorreu queda no vigor

durante as avaliações, chegando aos 21 dias com alta taxa de mortalidade, aproximadamente 70% (Figura 27).

**Figura 27-** Aspecto visual de mudas de *Khaya ivorensis*, na fase de pré-aclimatação, aos 7, 14 e 21 dias, em função dos tratamentos: permanência do plástico transparente intacto (vedado), e retirada total do plástico (aberto).



Observou-se diferença significativa entre os tratamentos de acordo com a Anova ( $p < 0,05$ ), quanto à sobrevivência aos 21 dias, no período de pré-aclimatação (Tabela 06).

**Tabela 06-** Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência de mudas de *Khaya ivorensis*, na pré-aclimatação, aos 21 dias.

FV	GL	QM <sup>1</sup>
Tratamento	1	1837,5*
Resíduo	4	187,5
CV(%)		26,08

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; CV: Coeficiente de Variação; \*Diferença significativa ao nível 5% de significância.

<sup>1</sup> Dados transformados em arcsen [raiz quadrada (x/100)].

O tratamento onde se manteve a cobertura intacta do plástico transparente foi o que obteve o melhor resultado, apresentando taxa de sobrevivência média de 83%, já quando se retirou o plástico essa sobrevivência reduziu-se para 33%. Segundo Costa et al. (2009) as folhas desenvolvidas em condições “in vitro” apresentam maior número de estômatos por área do que as folhas formadas “ex vitro” exibindo baixa regulação estomática, e ausência ou baixa

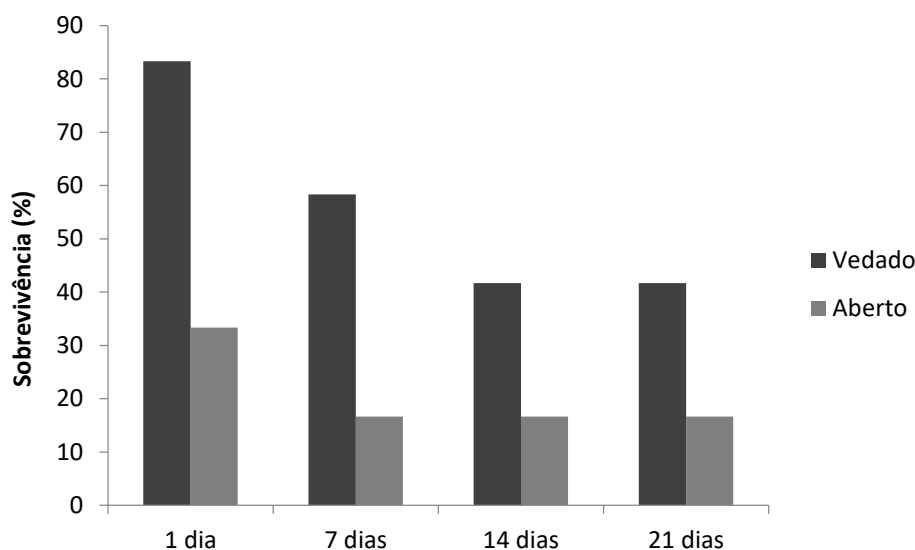
quantidade de cera epicuticular. Sendo isso atribuído à alta umidade relativa do ar dentro dos frascos de cultivo, associado à baixa irradiância da sala de crescimento (KHAN et al., 2003). Desta maneira, a baixa sobrevivência no tratamento em que se retirou a cobertura plástica é explicada pela transpiração excessiva das folhas, devido ao ineficiente controle de perda de água pelos estômatos, levando ao dessecamento e murchamento da folha. Segundo Shackel, Novello e Sutter (1990) quando cultivadas “in vitro”, devido à alta umidade dentro dos frascos de cultivo, as plantas abrem seus estômatos para manterem um equilíbrio com a atmosfera dos recipientes. Dessa maneira, quando as plantas são transferidas para a condição “ex vitro”, os estômatos permanecem abertos (SUTTER et al., 1992), ocasionando um elevado nível de estresse hídrico nas folhas, devido a reduzida capacidade dos estômatos de fecharem rapidamente (COSTA et al., 2009).

Ao final da pré-aclimatação, o resultado superior encontrado para o tratamento onde se manteve a cobertura plástica intacta é explicado devido ao fato dessa cobertura manter uma maior umidade dentro do recipiente. Segundo Nicioli et al. (2008), essa maior umidade obtida pela cobertura plástica se aproxima daquela encontrada no interior do tubo de ensaio. Grattapaglia e Machado (1999) explicam que os tratamentos em que se utilizam redução gradativa da umidade relativa são os mais recomendados para aumentar a sobrevivência no transplântio, uma vez que resultam em uma adaptação mais rápida dos estômatos do que em plantas que foram transplantadas diretamente para a casa de vegetação.

### **3.6 Aclimação “ex vitro” do mogno africano**

Aos 21 dias de aclimação em casa de vegetação, observou-se 41% de sobrevivência para as plantas que foram submetidas à pré-aclimatação com a cobertura intacta do plástico (vedado), enquanto que para as plantas em que o plástico foi retirado completamente (aberto) a sobrevivência foi de 16% (Figura 28).

**Figura 28-** Sobrevivência de *Khaya ivorensis*, na fase de aclimação na casa de vegetação ao longo das avaliações, em função dos tratamentos permanência da cobertura plástica (vedado) e retirada total do plástico (aberto).



A fase de aclimação das plantas estabelecidas “in vitro” é bem delicada, e é considerada uma das etapas mais críticas do processo de micropropagação, ocorrendo as maiores perdas. Nesta etapa, os explantes passam por grandes mudanças, sendo submetidos à transferência de um ambiente “in vitro” para o meio externo. Desta maneira é preciso que as plantas desenvolvam mecanismos de controle de transpiração e condutância estomática (OLIVEIRA et al., 2013). Além disso, constitui uma etapa importante na formação da muda, uma vez que esse material passa da condição heterotrófica para autotrófica, sofrendo bastante estresse fisiológico (BANDEIRA et al., 2007).

Neste trabalho, mesmo com as mudanças realizadas de forma gradativa, por meio dos tratamentos da pré-aclimação, nem todas as plantas permaneceram vivas na fase de aclimação na casa de vegetação (Figura 29). Essa mortalidade pode ter ocorrido devido ao menor controle de transpiração, levando à perda de água, ocasionando o murchamento e, posteriormente, a morte das plantas. Segundo Lamhamedi et al. (2003), as plantas cultivadas “in vitro” possuem baixa regulação de perda de água, devido a limitada funcionalidade dos estômatos e da deficiente formação de cera epicuticular.

**Figura 29-** Aclimação de mudas de *Khaya ivorensis* em casa de vegetação aos 21 dias.



Além dos estômatos e anatomia das plantas desenvolvida “in vitro”, a qualidade da raiz adventícia emitida também influencia na aclimação. Segundo Mohammed e Vidaver (1988) raízes produzidas “in vitro” nem sempre são funcionais, pois o ágar às vezes age de forma a impedir as trocas gasosas, inibindo o desenvolvimento do sistema vascular nas raízes, como também a produção de pêlos radiculares, o que pode afetar o desenvolvimento das plantas durante a fase de aclimação. Brondani et al. (2012) também explica que muitas vezes as raízes formadas “in vitro” não possuem uma conexão adequada entre o sistema vascular do caule e das raízes adventícias, não garantindo dessa maneira uma eficiente absorção de água e translocação de nutrientes.



#### 4 CONCLUSÕES

Dentre das condições experimentais adotadas e de acordo com os resultados obtidos na micropropagação de mogno africano (*Khaya ivorensis*), pode-se concluir que:

- O tratamento mais eficiente para a assepsia de sementes de mogno africano foi a desinfestação em hipoclorito de sódio 2,5% por 20 minutos, apresentando alta germinação (83%) e baixa contaminação (13%).
- O meio de cultura contendo carvão ativado e 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose é indicado para a germinação “in vitro” de *Khaya ivorensis*, apresentando as melhores taxas de germinação e IVG.
- Para o estabelecimento “in vitro”, indica-se a desinfestação em hipoclorito de sódio 2,5% e o meio MS 50% acrescido de carvão ativado, por apresentarem menor porcentagem de contaminação e oxidação, e percentual satisfatório de explantes responsivos.
- Na multiplicação “in vitro”, os tratamentos utilizados apresentaram baixa multiplicação de brotos viáveis (média de 0,70 brotos/explante).
- Na pré-aclimatação e aclimatação a permanência do plástico transparente intacto proporcionou os melhores resultados para a sobrevivência das mudas de mogno africano.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, A. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 442p.

ALMEIDA, N. M. de; PACHECO JUNIOR, R. G.; CÉZAR, J. de O.; GONÇALVES, H. A.; SOUZA, A. da S. Produção de mudas micropropagadas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em larga escala: uma inovação tecnológica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 16; CONGRESSO LATINO-AMERICANO E CARIBENHO DE MANDIOCA, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: SBM, 2015.

ANDRADE, M. W.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Alli.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 174-180, 2000.

BANDEIRA, F. S.; XAVIER, A.; OTONI, W. C.; LANI, E. R. G. Aclimação *ex vitro* de plantas propagadas pela enxertia *in vitro* de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis*. **Revista Árvore**, v. 3, n. 5, p. 773 - 781, 2007.

BARRUETO CID, L. P.; ZIMMERMANN, M. J. A. Contaminação *in vitro* de plantas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 20 p., 2006.

BERTOZZO, F.; MACHADO, I. S. Meios de cultura no desenvolvimento de ápices Caulinares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) *in vitro*. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n.6, p. 1477-1482, 2010.

BESSON, J.C.F.; OLIVEIRA, L.K.; BONETT, L.P.; STEFANELLO, S. Fontes e concentrações de carboidratos no crescimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de *Miltonia flavescentes* Lindl. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n.1, p. 9-13, 2010.

BIELACH, A.; DUCLERCQ, J.; MARHAVÝ, P.; BENKOVÁ, E. Genetic approach towards the identification of auxincytokinin crosstalk components involved in root development. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 367, n. 1595, p. 1469-78, 2012.

BORGES, S. R. **Micropropagação e enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus***. 2009. 72 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

BORGES, S. R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; LOPES, A. P.; OTONI, W. C.; TAKAHASHI, E. K.; MELO, L. A.; Estabelecimento *in vitro* de clones híbridos de *Eucalyptus globulus in vitro*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 3, p. 605-616, 2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS. 2009. 399 p.

BRONDANI, G. E.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. WENDLING, I.; HORNING, J. Estabelecimento, multiplicação e alongamento *in vitro* de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 11-19, 2009.

BRONDANI, G. E.; ONDAS, H.W.W.; BACCARIN, F. J. B.; GONÇALVES, A. N.; ALMEIDA, M. Micropropagation of *Eucalyptus benthamii* to form a clonal micro-garden. **In vitro Cellular Development and Biology-Plant**, Columbia, v. 48, n. 5, p. 478-487, 2012.

CHERUVATHUR, M. K.; ABRAHAM, J.; MANI, B.; THOMAS, T. D. Adventitious shoot induction from cultured intermodal explants of *Malaxis acuminata* D. Don, a valuable terrestrial medicinal orchid. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 101, n. 2, p. 163-170, 2010.

COSTA, F. H. S.; PEREIRA, J. E. S.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M.; SANTOS, A. M. Perda de água e modificações anatômicas em folhas de plantas de bananeiras micropropagadas durante a aclimação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.3, p.742-748, 2009.

COSTA, M. B. T.; ARRUDA, A. S.; VIEIRA, M. C.; PAULA, M. S. P.; LUZ, J. M. Q. Estabelecimento *in vitro* de *Ochroma pyramidale* em diferentes concentrações de meio MS e sacarose. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v.8, n.1, p.1-9, 2017.

COUTO, J. M. F. **Germinação e morfogênese *in vitro* de Mogno (*Swietenia macrophylla* King)**. 2002. 60 f.. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestal)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.

COUTO, J. M. F.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, A. L.; FONSECA, E. P. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n.5, p. 633-642, 2004.

DIAS, P. C.; OLIVEIRA, L. S. de.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.32, n. 72, p. 453-462. 2012.

DIGNART, S. L. **Luz e sacarose na micropropagação de *Cattleya walkeriana*: alterações anatômicas e fisiológicas**. 2006. 140 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

DONINI, L. P.; FERREIRA-MOURA, I.; GUISSO, A. P.; SOUZA, J. A.; VIÉGAS, J. Preparo de lâminas foliares de aráceas ornamentais: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo. v. 72, n. 4, p. 517-522, 2005.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação do eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n.58, p.49-59, 2009.

FAGUNDES, C. M.; MOREIRA, R. M.; RAMM, A.; SCHUCH, W.; TOMAZ, Z. F. P. Carvão ativado no estabelecimento *in vitro* de cultivares de framboeseira. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.16, n.4, p.406-413, 2017.

FERMINO JUNIOR, P. C. P.; PEREIRA, J. E. S. Germinação e propagação *in vitro* de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A. C. Smith-Fabaceae). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n.1, p. 1-9, 2012.

FERNANDES, A. C. **Propagação vegetativa e estabelecimento *in vitro* de *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose.** 2015. 59 F. Dissertação (Mestrado em Ciências de Florestas Tropicais), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM, 2015.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes.pt: Experimental Designs Pacakge** (Portuguese). R package version 1.1.2. 2013.

FIGUEIREDO, A. J. R. **Enraizamento *in vitro* de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell.** 2017. 147 f. Dissertação (Mestrado Ciências Florestais e Ambientais), Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, 2017.

FUKUDA, W. S. **Propagação *in vitro* de *Jacaranda ulei* Bureau & K. Schum. (Bignoniaceae).** 2011. 125 f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2011.

GALDIANO JÚNIOR, R. F.; MANTOVANI, C.; GOMES, E. S.; LEMOS, E. G. M. Morfologia do fruto, semente e propagação *in vitro* de *Caularthron bicornutum* (Orchidaceae). **Revista EPeQ Fafibe**, v.1, 2010.

GASPAR, T.; FRANCK, T.; BISBIS, B.; KEVERS, C.; JOUVE, L.; HAUSMAN, J. F.; DOMMES, J. Concepts in plant stress physiology: application to plant tissues cultures. **Plant Growth Regulation**, v. 37, n.3, p. 263-285, 2002.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: Part 1 – The technology.** Edington, Exegetics Limited, 1996. 1574p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília, DF: Embrapa-SPI, Embrapa-CNPB, 1998. v.1, p.183-260.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A.. Micropropagação. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S., BUSO, J.A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPASPI/ EMBRAPA-CNPB, 1999. v.2, p.533-568.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (Eds.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas.** Brasília: Embrapa-CNPB, 1990. p.99-169.

HALIZA, I.; FAUZI, M. S. A.; SUHAILA, A. R. S.; HASNIDA, H. N.; NAZIRAH, A.; FUAD, Y. M. *In vitro* propagation of *Khaya ivorensis* from coppiced. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 26, n. 2, p. 298-301, 2014.

HOFFMANN, A. Aclimação de mudas produzidas *in vitro* e *in vivo*. **Informe Agropecuário**, v.23, n.216, p.21-4, 2002.

KALIL FILHO, A. N.; GRAÇA, M. E. C.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. A Micropropagação do mogno (*Swietenia macrophylla*): desinfestação e germinação. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ECOSSISTEMAS FLORESTAIS . FOREST 2000, 6., 2000. Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro: [s.n.], 2000. p. Bio1013.

KHAN, S. V.; KOZAI, T.; NGUYEN, Q. T.; KUBOTA, C.; DHAWAN, V. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. **Biologia plantarum**, v.46, n.2, p.161-166, 2003.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 452p. 2008.

LAMHAMED, M.; CHAMBERLAND, H.; TREMBLAY, F. M. Epidermal transpiration, ultrastructural characteristics and net photosynthesis of white spruce somatic seedlings in response to *in vitro* acclimatization. **Physiologia Plantarum**, v.118, p.554-561, 2003.

LAMEIRA, O. A.; LOPES, S. C.; NOGUEIRA, R. C.; CORDEIRO, I. M. C. C.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, L. R. S. Efeito de diferentes concentrações de reguladores de crescimento sobre a micropropagação de mogno (*Swietenia macrophylla* King) por meio de explantes juvenis. **Plant Cell Culture Micropropagation**, v.1, n.2, p.53-58, 2005.

LAMEIRA, O. A.; LOPES, S. C.; LEÃO, N. V. M.; CORDEIRO, I. M. C. C.; REIS, L. R.S. Efeito de substratos na germinação *in vitro* de mogno (*Swietenia macrophylla* KING). **Plant Cell Cult. Micropropagation**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 15-19, 2006.

LEÓN, E. A. B. **Germinação, estabelecimento, regeneração e calogênese *in vitro* em explantes de açoita cavalo (*Luehea divaricata* Mart. & Zucc.)**. 2010. 61 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2010.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendro* spp. **HortScience**, v. 15, n.3, p. 416, 1981.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seeding emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 76-177, 1962.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora. Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

MARUYAMA, E.; ISHII, K.; SAITO, A.; MIGITA, K. Screening of suitable sterilization of explants and proper media for tissue culture of eleven tree species of PeruAmazon Forest. **Journal of Agriculture Science**, v.23, p.252-261. 1989.

MOHAMMED, G. H.; VIDAVER, W. E. Root production and plantlet development in tissue-cultured conifers. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.14, p.137-160. 1988.

MOURA, L. C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; OLIVEIRA, M. L. R. Micropropagação de Sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 12, p. 1691-1698, 2012.

MOURA, L. C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; OLIVEIRA, M. L. R. Germinação *in vitro* e aclimação de plântulas de sucupira preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, supplement 2, p. 678-687, 2014.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n. 3, p.473-497, 1962.

NICIOI, P.M.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; SANTANA, J.R.F. de; SILVA, L.C.; SILVA, D.C. da; PORTO, J.M.P. Ajuste do processo de micropropagação de barbatimão. **Ciência Rural**, v.38, p.685-689, 2008.

NOGUEIRA, J. S. **Germinação *ex vitro* e *in vitro* de gabirobeira**. 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Federal de Goiás, Jataí, GO, 2012.

NOGUEIRA, R. C.; PAIVA, R.; CASTRO, A. H.; VIEIRA, C. V.; ABBADE, L. C.; ALVARENGA, A. A. Germinação *in vitro* de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 1053-1059, 2004.

OLIVEIRA, L. S.; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa florestal brasileira**, Colombo, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013.

PACHECO, J.P.; FRANCO, E.T.H. Substratos e estacas com e sem folhas no enraizamento de *Luehea divaricata* Mart. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1900-1906, 2008.

PAN, M. J.; STADEN, J. The use of charcoal *in vitro* culture – A review. **Plant Growth Regulation**, v. 26, n. 3, p. 155-163, 1998.

PAIVA, H. N.; GOMES, J.M. **Propagação Vegetativa de Espécies Florestais**. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 2005.

PASQUAL, M. **Textos acadêmicos: meios de cultura**. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001. 127 p.

PINHEIRO, A. L.; COUTO, L.; PINHEIRO, D. T.; BRUNETTA, J. M. F. C. **Ecologia, silvicultura e tecnologia de utilização dos mognos africanos (*Khaya* spp.)**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Agrossilvicultura, 2011. 102 p.

QUISEN, R. C. **Transformação genética de *Eucalyptus camaldulensis* via co-cultivo com *Agrobacterium tumefaciens***. 2007. 125 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>> Acesso em 21 Julh. 2013.

RIBEIRO, V. G.; SANÁBIO, D.; SOUZA, C. N.; LOPES, P. S. N.; BOCARDO, M. R.; PASQUAL, M. Efeito de ácido giberélico e carvão ativado no cultivo *in vitro* de *Citrus Limonia* OSBECK x *Poncirus Trifoliata* (L.). **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, vol.35, n.1, p. 27-30, 2000.

ROCHA, S. C.; QUOIRIN, M.; RIBAS, L. L. F.; KOEHLER, H. S. Micropropagação de *Cabralea canjerana*. **Revista Árvore**, v.31, p. 43-50, 2007.

SERVIÇO FLORESTAL BRASILEIRO (2018). **Sistema Nacional de Informações Florestais**: espécies florestais. Disponível em: < <http://snif.florestal.gov.br/pt-br/especies-florestais> >. Acesso em: 20 de jul. 2018.

SHACKEL, K. A.; NOVELLO, V.; SUTTER, E. G. Stomatal function and cuticular conductance in whole tissue cultured apple plants. **Journal of American Society Horticultural**, v.115, p.468-472, 1990.

SHARMA, S. K.; RAMAMURTHY, V. Micropropagation of 4-year-old elite *Eucalyptus tereticornis* trees. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 19, n. 5, p. 511-518, 2000.

SILVA, L. C.; SCHUCH, M. W.; SOUZA, J. A.; ERIG, A. C.; ANTUNES, L. E. C. Efeito da iluminação e pré-lavagem das brotações de mirtilo cv. Florida no estabelecimento *in vitro*. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 1, p. 127-129, 2007.

SOARES, T. L.; OLIVEIRA, E. J.; JESUS, O. N.; MARTINS, C. A. D.; SANTOSSEREJO, J. A. **Influência da Sacarose na Germinação de Pólen *in vitro* de *Passifloras Silvestres***. In Embrapa Mandioca e Fruticultura-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 6., 2011, Búzios. Panorama atual e perspectivas do melhoramento de plantas no Brasil: [anais]. Búzios: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2011.

SOUZA, A. V.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CORRÊA, R. M.; CASTRO, E. M. de. Germinação de embriões e multiplicação *in vitro* de *Lychnophora pinaster* Mart. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, p. 1532-1538, dez. 2003.

SOUZA, E. T. S. **Multiplicação *in vitro* de mogno (*Khaya senegalensis*)**. 2013. 118 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

SOUZA, G. C. CLEMENTE, P. L.; ISAAC, V. L. R.; FARIA, S. P.; FERREIRA, A. S.; CAMPOS, M. R. C. Contaminação microbiana na propagação *in vitro* de *Cattleya walkeriana* e *Schomburgkia crispata*. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, p.405-407, 2007.

SUTTER, E. G.; SHACKEL, K.; DIAZ, J. C. Acclimatization of tissue cultured plants. **Acta Horticultrae**, n.314, p.115-119, 1992.

TEIXEIRA, J. B. Limitações ao processo de cultivo *in vitro* de espécies lenhosas. Brasília: Embrapa – **Recursos. Genéticos e Biotecnologia** Brasília, 2005.

THOMAS, TD. The role of activated charcoal in plant tissue culture. **Biotechnology Advances**, v. 26, p. 618-631, 2008.

VEDOVATO, N. P. F. **Otimização de protocolos para germinação *in vitro* de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.)**. 2011, 62 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de plantas). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, 2011.

VIEIRA, E.L; MONTEIRO, C.A. **Hormônios vegetais**. In: Introdução à fisiologia vegetal. Maringá, Eduem. p.79-104, 2002.

WERNER, E. T.; CUZZUOL, G. R. F.; PESSOTTI, KAMILA, V.; LOPES, F. P.; ROGER, J. A. Controle da calogênese do pau-brasil *in vitro*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 6, p. 987-996, 2009.

XAVIER, A.; OTONI, W. C. Aplicações da micropropagação na clonagem de *Eucalyptus* no Brasil. **Agronomía Costarricense** n.33, vol.(2), p. 303-307,2009.

XAVIER, A.; OTONI, W.C.; PENCHEL, R.M. **Micropropagação e enxertia *in vitro* de espécies florestais**. In: BORÉM, A. (Ed.) Biotecnologia florestal. Viçosa: Editora UFV, 2007. p.55-74.



## CONCLUSÕES GERAIS

- Na propagação vegetativa por miniestaquia de *Khaya ivorens* os melhores resultados foram obtidos utilizando-se a concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup> de AIB em miniestacas caulinares. A utilização de miniestaca foliar não foi considerada adequada para a propagação vegetativa do mogno africano, uma vez que não houve desenvolvimento da parte aérea.
- Na micropropagação, os melhores resultados para a germinação “in vitro” de sementes de mogno africano ocorreram com a desinfestação em hipoclorito de sódio 2,5% por 20 minutos, e a utilização do meio de cultura contendo carvão ativado e 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose. Para o estabelecimento “in vitro”, indica-se a desinfestação em hipoclorito de sódio 2,5% e a utilização do meio MS 50% acrescido de carvão ativado. Na multiplicação “in vitro”, os diferentes tratamentos utilizados em geral apresentaram baixa multiplicação de brotos viáveis (média de 0,70 brotos/explante). Na pré-aclimatação e aclimatação a permanência do plástico transparente intacto proporcionou os melhores resultados para a sobrevivência das mudas de mogno africano.